



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

“Cuantificación de los compuestos polifenólicos y evaluación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera”

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Arnaldo Joseph NAVARRO SOTO

ASESOR

Américo Jorge CASTRO LUNA

Norma Julia RAMOS CEVALLOS

Lima, Perú

2018



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Navarro A. “Cuantificación de los compuestos polifenólicos y evaluación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera” [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2018.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Decanato



73 ps A.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

Cuantificación de los compuestos polifenólicos y evaluación de la actividad
antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L,
Muehlenbeckia volcánica (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera

Que presenta el Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

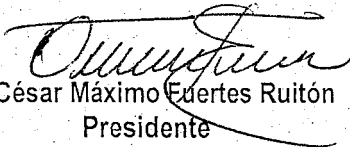
ARNALDO JOSEPH NAVARRO SOTO

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la **SUSTENTACIÓN** de la **TESIS**, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación han obtenido la siguiente calificación:

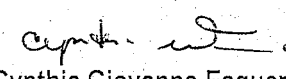
Dieciocho (18) - Sobresaliente

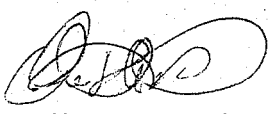
en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico(a) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 19 de setiembre de 2018 ✓


Dr. César Máximo Fuertes Ruitón
Presidente


Mg. Carmen Gladys Peña Suasnabar
Miembro


Mg. Cynthia Giovanna Esquerre Huallpa
Miembro


Mg. Oscar Herrera Calderón
Miembro

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

DEDICATORIA

A Dios, por darme las oportunidades de vivir cada día y convertirme en una buena
persona.

A mis padres Maria y Luis, por haberme dado la vida, por sus apoyos
incondicionales durante todo mi desarrollo profesional, por sus consejos y por
depositar su confianza en mí, ya que ellos son mi razón de ser cada día mejor.

A mis hermanos, por la gran comprensión y apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Américo Jorge Castro Luna, quién influyó con sus enseñanzas, lecciones, experiencias y valiosos consejos en mi formación como una persona de bien y preparado para los retos profesionales.

A la Dra. Norma Julia Ramos Cevallos por su amistad, por haberme inculcado valores, enseñanzas y consejos que me ha permitido ser una buena persona.

A todos los miembros de mi jurado, por sus consejos académicos y por el tiempo dedicado.

A mis amigos de la Facultad, por su valioso apoyo y amistad.

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivos evaluar la cuantificación de los compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L (frutos), *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. (planta entera) y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera (planta entera). La cuantificación de los compuestos polifenólicos se evaluó según el método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu, utilizando el ácido gálico como estándar y la actividad antioxidante se determinó por el método de DPPH• y ABTS•⁺. Las determinaciones para el contenido de compuestos polifenólicos de *A. occidentale* L, *M. volcanica* y *G. purpurea* se encuentran entre $6,369 \pm 0,27$; $53,306 \pm 0,57$ y $68,915 \pm 2,93$ mg EAG/ g ES, respectivamente; mientras que sobre la actividad antioxidante según el IC₅₀ se obtuvieron 19,29; 17,55; 4,11 y 5,83; 5,43; 5,26 µg/mL para los métodos de DPPH• y ABTS•⁺, respectivamente. Se concluye que *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera presentó mayor contenido de compuestos polifenólicos con $68,916 \pm 2,93$ mg EAG/g ES, y con respecto la actividad antioxidante por DPPH• y ABTS•⁺, ésta presentó un TEAC de 0,428 y 0,5 respectivamente.

Palabras clave: actividad antioxidante, compuestos polifenólicos, pepa de marañón.

SUMMARY

The objective of the present investigation was to evaluate the quantification of polyphenolic compounds and the in vitro antioxidant activity of the hydroalcoholic extracts of *Anacardium occidentale* L (fruits), *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. (whole plant) and *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera (whole plant). The quantification of the polyphenolic compounds was evaluated according to the spectrophotometric method developed by Folin and Ciocalteu, using gallic acid as standard and the antioxidant activity was determined by the DPPH • and ABTS •⁺ method. The determinations for the content of polyphenolic compounds are between $6,369 \pm 0,27$; $53,306 \pm 0,57$ and $68,915 \pm 2,93$ mg GAE / g DE, respectively; while on the antioxidant activity according to the IC₅₀ were obtained 19,29; 17,55; 4,11 and 5,83; 5,43; 5,26 µg / mL for the methods of DPPH• and ABTS •⁺, respectively. It is concluded that *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera had higher content of polyphenolic compounds of $68,916 \pm 2,93$ mg GAE/g DE, and with respect to antioxidant activity by DPPH• and ABTS•⁺, this presented a TEAC of 0,428 and 0,5 respectively.

Key words: antioxidant activity, polyphenolic compounds, cashew nut.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1.1.Planteamiento del Problema	2
1.2. Objetivo general	2
1.3. Objetivos específicos	2
1.4. Hipótesis	3
1.5. Justificación	3
II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Aspecto botánico	10
2.3. Aspecto químico	15
2.4. Actividad antioxidante	16
2.5. Compuestos polifenólicos	18
III. METODOLOGÍA.....	20
3.1. Tipo de investigación	20
3.2. Entidad donde se desarrolló la investigación.....	20
3.3. Flujograma del trabajo experimental	20
3.4. Materiales	21
3.5. Métodos	22
IV. RESULTADOS.....	27
V. DISCUSIÓN	39
VI. CONCLUSIONES.....	50
VII. RECOMENDACIONES	51
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
XI. ANEXOS	63

ABREVIATURAS

DPPH• : Radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo.

ABTS•+ : Acido 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico.

IC₅₀: Concentración de inhibición al 50% de DPPH•.

TROLOX® : 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid, antioxidante análogo hidrosoluble de alfa-tocoferol (Vitamina E).

TEAC: Capacidad antioxidante equivalente al trolox®.

CPF: Compuestos polifenólicos.

ERO: Especies Reactivas de Oxígeno

ERN: Especies Reactivas de Nitrógeno

LISTA DE TABLAS

- Tabla 1.** Compuestos polifenólicos más comunes en vegetales
- Tabla 2.** Estudio fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos.
- Tabla 3.** Resultados de los compuestos de polifenólicos de las tres muestras estudiadas y su desviación estándar.
- Tabla 4.** Resultados de las actividad antioxidante del extracto “pepa de marañón” por el método de DPPH• .
- Tabla 5.** Resultados de las actividad antioxidante del extracto “pepa de marañón” por el método de ABTS•⁺
- Tabla 6.** Resultados de las actividad antioxidante del extracto “mullaca” por el método de DPPH•.
- Tabla 7.** Resultados de las actividad antioxidante del extracto de “mullaca” por el método de ABTS•⁺.
- Tabla 8.** Resultados de las actividad antioxidante del extracto “mullaca” por el método de DPPH•.
- Tabla 9.** Resultados de las actividad antioxidante del extracto de “keto keto” por el método de ABTS•⁺.
- Tabla 10.** Resultados de la actividad antioxidante de Trolox ® por el método DPPH•
- Tabla 11.** Resultados de la actividad antioxidante de Trolox ® por el método de ABTS•⁺.
- Tabla 12.** Rendimientos de los extractos secos y contenido de compuestos polifenólicos expresados en miligramos de ácido gálico por gramo de muestra seca.
- Tabla 13.** Resumen de los resultados expresados por peso de extracto seco.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Frutos de *Anacardium occidentale* L.
- Figura 2.** Planta entera de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.
- Figura 3.** Planta entera de *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera.
- Figura 4.** La cadena de transporte de electrones mitocondrial es considerada la mayor fuente de formación de radicales libres.
- Figura 5.** Clasificación de algunos compuestos polifenólicos.
- Figura 6.** Diseño del trabajo experimental
- Figura 7.** Curva de calibración de ácido gálico.
- Figura 8.** Correlación entre extractos hidroalcohólico cáscara de la “pepa de marañón” vs % de inhibición del radical DPPH•.
- Figura 9.** Correlación entre extractos hidroalcohólico cáscara de la “pepa de marañón” vs % de inhibición del radical ABTS•⁺.
- Figura 10.** Correlación entre extractos hidroalcohólico de “mullaca” vs % de inhibición del radical DPPH•.
- Figura 11.** Correlación entre extractos hidroalcohólico de “mullaca” vs % de inhibición del radical ABTS•⁺.
- Figura 12.** Correlación entre extractos hidroalcohólico de “keto keto” vs % de inhibición del radical DPPH•.
- Figura 13.** Correlación entre extractos hidroalcohólico de “keto keto” vs % de inhibición del radical ABTS•⁺.
- Figura 14.** Correlación entre solución patrón de Trolox® vs % de inhibición del radical DPPH•.
- Figura 15.** Correlación entre solución patrón de Trolox® vs % de inhibición del radical ABTS•⁺.
- Figura 16.** Correlación entre capacidad antioxidante (TEAC, µg Trolox/µg ES) determinados por los ensayos DPPH• y ABTS•⁺.
- Figura 17.** Correlación entre los compuestos polifenólicos y los ensayos ABTS•⁺ y DPPH•

I. INTRODUCCIÓN

Desde hace muchos años, se ha venido estudiando a un grupo específico de compuestos químicos, los cuales se han denominado antioxidantes, mientras que a su vez se ha incrementado la incidencia y prevalencia de enfermedades originadas por la poca ingesta de estos.

La mayor parte de las enfermedades que padece el hombre en la actualidad, proviene de una inadecuada alimentación, representando así a las enfermedades crónicas no transmisibles¹. Entre ellas las cardiovasculares y diversos tipos de cáncer, consideradas éstas como las primeras causas de muerte².

Los compuestos antioxidantes existen bajo formas endógenas y exógenas, los cuales participan como numerosas enzimas en defensa del organismo^{3,4}. Sin embargo, en nuestro organismo bajo el curso normal de su metabolismo, se producen radicales libres, lamentablemente cuando son generados en cantidades excesivas su energía es extremadamente alta y puede dañar los tejidos normales⁵. En Perú y en el mundo algunas plantas y frutos poseen actividad antioxidante elevada y que puede estar asociada a su contenido en compuestos polifenólicos, que marcan un gran poder reductor⁶, asimismo, ello se explica por los altos niveles de vitamina C que contienen⁷, además, puede haber un potencial de sinergismo entre los constituyentes antioxidantes⁸. La capacidad antioxidante descrita para distintos polifenoles se puede considerar como un arma biológica a nuestro favor, como es el efecto preventivo frente a determinadas enfermedades, entre ellas, el cáncer, que lo desarrollan millones de personas en el mundo tanto en los países desarrollados y subdesarrollados como el nuestro^{9,10}.

La protección que las plantas pueden brindar contra éstas enfermedades degenerativas como cáncer y enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares, ha sido atribuida a su alto contenido de varios antioxidantes⁸.

A pesar de que en la actualidad existen los llamados “fármacos citostáticos” y otros tratamientos que eliminan grandes cantidades de células cancerígenas, éstos tienen riesgos como efectos tóxicos en nuestro cuerpo¹¹, por ello, es importante continuar con el desarrollo de nuevos tratamientos preventivos y tratamientos durante la enfermedad, a través de la búsqueda de nuevos componentes derivados de las plantas que se pueden encontrar en nuestra amazonia peruana. Por esta razón se seleccionó tres plantas: *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera., las cuales se le atribuyen actividad antioxidante y por poseer compuestos polifenólicos.

1.1.Planteamiento del Problema

Formulación del problema

¿Cuál es la concentración de los compuestos polifenólicos que presentan los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera?

¿ Los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera. presentan actividad antioxidante ?

1.2. Objetivo general

1. Cuantificar los compuestos polifenólicos y determinar la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea*.

1.3. Objetivos específicos

1. Realizar el análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale*, *Muehlenbeckia volcanica*, *Gamochaeta purpurea*
2. Cuantificar los compuestos polifenólicos de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale*, *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea*.

3. Determinar la actividad antioxidante *in vitro* de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale*, *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea*.
4. Comparar la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale*, *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea*.

1.4. Hipótesis

1. La concentración de los compuestos polifenólicos presentes en los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera, varían de una especie a otra.
2. Los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera presentan actividad antioxidante.

1.5. Justificación

Las investigaciones que implican la determinación de las actividades antioxidantes de especies vegetales han tomado importancia en la prevención de reacciones oxidativas, tanto en los productos alimenticios y en nuestro organismo. La búsqueda de recursos alternativos ya es una realidad, siendo el fruto de *Anacardium occidentale* L conocida y utilizada popularmente, que requiere estudios que evidencien éstas propiedades¹². Algunos autores refieren que los extractos antocianicos y etanólicos de la cascara de *Anacardium occidentale* L poseen potentes propiedades antioxidantes y antitumorales y que podrían ser aplicados en el campo de la industria alimentaria, cosmética y farmacéutica^{13,14}.

Mientras que las especies *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea* aparte de ser escasamente estudiadas, en el caso de *Gamochaeta purpurea*, algunos pobladores afirman que puede curar el cáncer. Y sobre *Muehlenbeckia volcánica*, algunos pobladores de la sierra central mencionan que ayuda al aprendizaje y la memoria la cual podría estar implicada ésta, en la neutralización de radicales libres involucrados en la neurodegeneración cerebral y otros que puede curar las úlceras de origen intestinal, es por ello, que el estudio de las plantas silvestres permitirá aportar nuevos conocimientos para la búsqueda,

descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos, entre otros, y en consecuencia promoverá la aparición de nuevos tratamientos terapéuticos ¹⁵. Es por ello que es importante realizar una investigación para poner en evidencia esta actividad in vitro a través de un tipo de estudio que represente una importancia científica, como los métodos utilizados para determinar la actividad antioxidante.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

En el estudio del género *Anacardium*, se considera 11 especies siendo *Anacardium occidentale* L su representante más conocido, estas plantas puede ser de pequeño a mediano tamaño, de 1,5 a 10 m de altura, en su hábitat natural, poseen hojas simples y alternas, elípticas de color verde azuladas. Tienen tronco grueso y contorsionado. Posee flores pequeñas y aromáticas de color verdoso o gris. Tiene frutos las cuales son drupas de 2 a 4 cm de largo por 1 a 2,5 cm de ancho, de color gris o café, suspendida en el extremo de un pedicelo alargado en forma de pera "fruto falso", es nativa de América tropical ¹⁶ .

En la investigación de Sulbarán B.*et al*¹⁷, se estudió la actividad antioxidante de pseudofrutos de cauji (*Anacardium occidentale* L.), donde la actividad antioxidante se determinó empleando el método de decoloración del radical catión ABTS^{•+} (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6- sulfónico), utilizando Trolox y ácido ascórbico como patrones de referencia. La capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) y ácido ascórbico (AEAC) fue de 12,57 $\mu\text{mol ET.g}^{-1}$ y 126,87 $\mu\text{mol EA.g}^{-1}$ respectivamente, presentando la mayor actividad antioxidante la fracción hidrofílica, sus resultados indicaron que el pseudofruto de *Anacardium occidentale* L, es una fuente rica en ácido ascórbico y otros compuestos antioxidantes.

En otra investigación se evaluó la actividad antimicrobiana y antioxidante de los extractos de etanol de las hojas, corteza del tallo y flores de *Anacardium occidentale* L. La actividad antioxidante se evaluó mediante la capacidad de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH[•]) y también identificaron ácidos anacárdicos y galácicos en todos los extractos así como compuestos fenólicos. Los extractos que obtuvieron de las partes aéreas de *Anacardium occidentale*, principalmente el extracto de flores fue el más eficaz. Mientras que la actividad antimicrobiana se evaluó por difusión en agar y las concentraciones bactericidas y fungicidas fueron mínimas, se determinó la actividad antimicrobiana contra bacteria como *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus acidophilus*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia*

coli, Klebsiella pneumoniae, Helicobacter pylori, Candida albicans y Candida tropicalis ¹⁸.

Los compuestos químicos que pueden tener estas plantas son los ácidos anacárdicos junto con los alquilresorcinólicos que constituyen alrededor del 90% de la composición del líquido de la cascara del fruto falso de esta planta, también se describe que poseen propiedades tóxicas e irritantes y que se ha encontrado compuestos fenólicos en 16 cepas en este género, entre estos, 4 ácidos anacárdicos que exhiben actividad inhibidora considerable contra bacterias Gram-positivas Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, Bacillus subtilis y Propionibacterium acnes. Cabe señalar acerca de estos compuestos químicos, que la longitud de sus cadenas de alquilo influye en dicha actividad inhibitoria . Este hecho se confirmó mediante la comparación de la actividad de estas sustancias con el ácido salicílico, que también muestra actividad contra la mayoría de los microorganismos mencionados anteriormente ¹⁶ .

En otro estudio acerca de la pulpa y del pedúnculo en extractos acuosos y etanólicos de *Anacardium occidentale* L, se demostró el contenido de compuestos fenólicos. Además, estos ácidos fenólicos exhibieron actividad antioxidante más fuerte que los extractos probados por el método de captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) realizadas en las mismas muestras. En las fracciones de ácidos fenólicos se identificaron ácido gálico, caféico, cinámico, p-cumárico y ácido salicílico, a los que se le atribuye la actividad antioxidante ¹² .

En el estudio sobre los extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L, con etanol al 70%, se detectaron cumarinas y otros metabolitos como saponinas, flavonoides, azúcares reductores, aminoácidos libres, triterpenos/esteroides, fenoles/taninos. El extracto seco mostró actividad antibacteriana contra Staphylococcus aureus, con los mayores halos de inhibición para la dilución de 200 mg/mL ¹³.

Muehlenbeckia volcanica es una planta perteneciente a la familia de las Polygonaceae, conocidas por sus propiedades diuréticas y astringentes. A partir de 1955 se comenzó a evaluar los efectos farmacológicos de esta planta ¹⁹.

Es una hierba, un subarbusto rastrero que posee hojas alternas de color verde intenso y flores pequeñas, bisexuales verde amarillento o cremoso. La floración y fructificación se da todo el año, es conocido con el nombre de “mullaca” crece en clima frío y su hábitat se da en suelos expuestos con vegetación enana y pajonales, y bordes de bosques de polylepis alrededor de los 2500 msnm. En un estudio se identificó los metabolitos secundarios de baja polaridad presentes en hojas de este género *Muehlenbeckia*, para ello realizaron un macerado con éter de petróleo de hojas empleando un equipo Soxhlet, así, identificaron los siguientes compuestos: nonacosano (17,48%), heptacosano (14,29%), metil-commate A (8,39%), hentriacontano (8,14%), tricosano (5,80%), alfa-tocoferol (4,72%), 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol (4,12%), ácido n-hexadecanoico (3,31%), heneicosano (2,68%), ácido 9,12,15-octadecatrienoico (1,63%), docosano (1,96%), tetracosano (2,16%), hexacosanoato de metilo (1,03%), entre otros más, donde se da a conocer que hay presencia de una gran variedad de metabolitos secundarios como el benzoato de bencilo, el alfa-tocoferol, que pertenece a los nutrientes de la vitamina E y que posee la mayor actividad antioxidante y ayuda a prevenir el cáncer, el 1-Octacosanol que previene infartos y reduce el colesterol de la sangre, el estigmasterol precursor de la progesterona y de la vitamina D3 ²⁰.

En la literatura científica, se reporta que las antocianinas están presentes en muchos frutos (bayas) y flores, estos son colorantes naturales, pertenecientes al grupo de los flavonoides, a las que se les atribuye actividad antioxidante. Asimismo se han utilizado extractos antociánicos tratados con acetona y cloroformo para su extracción. Se hizo en los frutos de *Muehlenbeckia volcanica*, *Monnina salicifolia* (Aceitunilla) y *Prunus serótina* (Capuli), con el objetivo de evaluar su actividad antioxidante a diferentes concentraciones y caracterizar sus antocianidinas. Teniendo como resultado que todos los extractos antociánicos presentaron actividad antioxidante sobre ambos radicales, a diferentes concentraciones, de los cuales el extracto antociánico de *Muehlenbeckia volcanica* (Mullak'a) presentó mayor actividad antioxidante, con un IC₅₀= 2,2247, 4,077 µg/ml frente a los radicales DPPH• y ABTS•+ respectivamente, seguido de

Monnina salicifolia (Aceitunilla) y el extracto de *Prunus serotina* (Capuli), destacando la buena actividad antioxidante de *Muehlenbleckia volcanica* ²¹.

También se ha reportado el estudio de las actividades antinociceptivas y antiinflamatorias del extracto de etanol de hojas de *Muehlenbeckia platyclada* en modelos animales. Donde el extracto pudo reducir el número de contorsiones abdominales inducidas por ácido acético en un 21,57% (400 mg / kg). Estos resultados indican que el extracto etanólico de *Muehlenbeckia platyclada* puede constituir un blanco potencial para el descubrimiento de nuevas moléculas con actividades antinociceptivas y antiinflamatorias que puedan ser exploradas para su uso terapéutico ¹⁴.

La familia *Asteraceae* es una familia de plantas muy extensa, en la cual se incluyen especies como : *Gamochaeta americana* Mill. *Gamochaeta humilis* Wedd. *Gamochaeta purpurea* L. *Gazania splendens* Hort, entre otras, descritas en el Herbario Magdalena Pavlich de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (HUPCH) la cual posee muestras botánicas que provienen de ocho departamentos del Perú (Lima, Piura, Pasco, Apurímac, Lambayeque, Moquegua, Tumbes y San Martín) reportando que estas plantas son las más importantes dentro de su familia. Ésta familia es de mayor predominancia con 195 especies en 1041 ejemplares ²², dentro de las cuales se encuentra el género *Gamochaeta*, la cual se distribuye por las regiones templadas en algunas partes del mundo y que son hasta ahora, pocos blancos de estudio ²³.

Gamochaeta purpurea L conocida también con el nombre vulgar de “keto keto” o “lengua de perro” crece a una altitud de 3950 m s n m, vive en clima frío y su hábitat son suelos húmedos, bordes de chacras y riveras de quebradas, pertenece a la clase Magnoliopsida. Asimismo, en Argentina, las asteráceas representan la familia más numerosa con 227 géneros (cinco son endémicos) y el mayor número de especies nativas ²⁴.

Se ha realizado estudios sobre algunas de las especies pertenecientes a esta numerosa familia de *Asteraceae*, una de ellas es *Spilanthes acmella* Murr que lo usan para el dolor de muelas, dolor de cabeza y tratamiento del asma, además se encontró que sus extractos de acetato de etilo y metanólico mostraron actividad

comparable en el ensayo de DPPH• y la mayor actividad de eliminación de radicales (47.90 y 47.76%) con IC₅₀ 216 y 223 µg / ml, respectivamente ²⁵. Otra especie de la misma familia es *Gnaphalium affine*, donde su extracto metanólico mostró una notable actividad antioxidante tanto in vitro como en el sistema alimentario. También exhibió la excelente capacidad de proteger las células contra la lesión oxidativa inducida por H₂O₂, además se identificaron a la quercetina como uno de sus componentes ²⁶. *Bidens pilosa* también forma parte de esta numerosa familia, el aceite de sus hojas mostró elevada de la actividad antioxidante en el ensayo de DPPH• ²⁷.

En el contexto del campo de la investigación, estos antecedentes nos encaminan a seguir la realización de más estudios de las plantas de *Anacardium occidentale* L., *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera, por el mismo motivo de que las referencias de éstas plantas, son todavía escasas, es importante hacer énfasis en la parte investigativa que nos llevará a obtener mayor información y esclarecer acerca de su uso popular como antioxidante para prósperas investigaciones.

2.2. Aspecto botánico

2.2.1. *Anacardium occidentale* L. “pepa de marañón”.

A. Clasificación taxonómica. Según el sistema de clasificación de Cronquist (1988).

Nombre científico: *Anacardium occidentale* L.

Taxonomía

Reino: PLANTAE

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: ROSIDAE

Orden: SAPINDALES

Familia: ANACARDIACEAE

Género: *Anacardium*

Especie: *Anacardium occidentale* L.

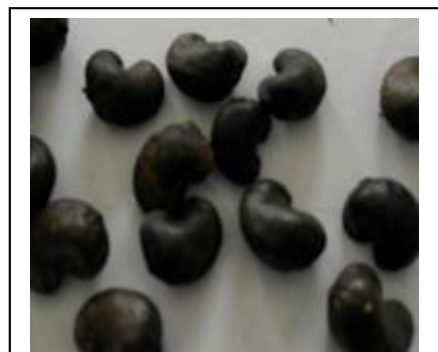


Figura 1. Frutos de *Anacardium occidentale* L.

Nombre vulgar: “pepa de marañón”. (Anexo 1)

Sinonimos: cashew, caju, cauñil ^{17,28,29} .

B. Características morfológicas

Crece en la selva tropical hasta 15 m de altura, con ramas tan serpenteantes que a menudo alcanzan el suelo, en su hábitat natural, poseen hojas simples y alternas, elípticas de color verde azuladas. Posee flores pequeñas y aromáticas de color verdoso o gris. Tiene frutos los cuales son drupas de 2 a 4 cm de largo por 1 a 2,5 cm de ancho, de color gris o café, suspendida en el extremo de un pedicelo alargado en forma de pera “fruto falso”, es nativa de América tropical ¹⁶ .

C. Distribución geográfica

Crece en estaciones húmedas y secas, entre 750 y 3 750 msnm . Lo encontramos en los departamentos de Loreto, San Martín, Madre de Dios, Junín, Lambayeque y Ucayali. Esta planta la encontramos también en Brazil, donde es nativa, en Ecuador, y en Mexico ^{28,29} .

D. Propiedades medicinales

Puede reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, especialmente los accidentes cerebrovasculares, asimismo, el riesgo de síndrome metabólico ²⁸ . Las hojas se han usado para el tratamiento de la bronquitis y asma. Las infusiones de las hojas, para aliviar dolor de muelas, dolor de encías y la infusión de la corteza para tratar el dolor de estómago ²⁹ .

El extracto de hojas posee potente efecto antibacteriano y actividad antifúngica contra un amplio espectro de patógenos humanos. El líquido obtenido de la cáscara de *Anacardium occidentale* también tiene efecto larvicida, antifúngica, antibacteriana, antiinflamatoria, antimicrobiana, astringente, diurética, hipoglucemiante, antitumoral y otras propiedades medicinales ^{30,31} .

2.2.2. *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. “mullaca”.

A. Clasificación taxonómica. Según el sistema de clasificación de Cronquist (1988).

Nombre científico: *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.

Taxonomía

Reino: PLANTAE

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: CARYPHYLLIDAE

Orden: POLYGONALES

Familia: POLYGONACEAE

Género: *Muehlenbeckia*

Especie: *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.

Nombre vulgar: “mullaca”, “mullak’a” ³² (Anexo 2)



B. Características morfológicas: Es una hierba postrada ³², que alcanza a medir 20cm de altura, posee hojas pequeñas, uniformemente alternas enteras, simples. Las flores son pequeñas dispuestas con pétalos polimórficos. Los frutos en aquenio aplanado de color negruzco azulado ³³.

C. Distribución geográfica: Crece en áreas distribuidas en terrenos secos, rocosos, arcillosos. En el Perú lo encontramos en los departamentos de Ancash, Huanuco, La libertad ³³, en cuzco ³⁴, cordillera de Vilcanota a 3800 msnm – 4200 msnm ³⁵. En Lima, como en la provincia de Canta ³⁶. En Junin como en las alturas de la provincia de Concepción a altitudes de 4350 msnm y 4550 msnm ³². En las laderas rocosas de las regiones altiplánicas del departamento de Puno a 3950 msnm- 4200 msnm ³⁷. En Cajamarca como al norte de la laguna maqui maqui ³⁸. Y en la microcuenca de Pachachaca en el departamento de Huancavelica ³⁹.

También esta planta la encontramos en Colombia, Costa Rica, Guatemala, México, Bolivia y Ecuador ⁴⁰.

D. Propiedades medicinales: En algunas regiones como en el Cuzco utilizan el 81% de toda la planta; donde usan la hierba para preparar las infusiones o "mates calientes" para tratar afecciones como inflamaciones renales y hepáticas, dolencias gastrointestinales y afecciones broncopulmonares y mejorar el aprendizaje ³⁴. Se usa también para aftas, fiebre, dolor de dientes, donde las hojas son masticadas hasta que pase el dolor, para las diarreas y la tos ⁴¹.

2.2.3. *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera. “Keto keto”

A. Clasificación taxonómica. Según el sistema de clasificación de Cronquist (1988).

Nombre científico: *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera.

Taxonomía

Reino: PLANTAE

División: MAGNOLIOPHYTA

Clase: MAGNOLIOPSIDA

Subclase: ASTERIDAE

Orden: ASTERALES

Familia: ASTERACEAE

Género: *Gamochaeta*

Especie: *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera.



Figura 3. Planta entera de *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera.

Nombre vulgares: “keto keto”, “lengua de perro”⁴². (Anexo 3)

B. Características morfológicas: Son hierbas perennes, crecen bienales o anuales, algunos crecen hasta 60-70 cm de altura, se ramifica solo a nivel del suelo. Algunos presentan tricomas flagelados, glandulares, estos tricomas son cortos y de 0,02-0,05 mm de largo. Los pelos glandulares están diseminados cubriendo la superficie de la hoja con algunos tricomas flagelados u ocultos debajo de los tricomas lanosos. Poseen una rama, la cual tiene dos ejes cortos (segundas ramas), y éstas tienen ramas laterales lo que resulta en una terminal densa. En sus pedúnculos contienen de 12-104 florecillas pistiladas. Poseen campanula en la mayoría de las especies, que oscila entre 3 y 5,5 mm de alto. Sus hojas pueden medir hasta 4 cm de longitud y tiene forma lineal ovada, o forma de “lengua de perro”⁴³.

C. Distribución geográfica. Crecen en bosques secos, pastos y pastizales. A nivel del suelo entre 465 a 3950 msnm. Es originaria de América y lo podemos encontrar distribuida en Ancash, Cajamarca, Lambayeque, La Libertad y San Martín^{44, 45}.

También a esta planta la encontramos en Chile, Colombia, Australia y Argentina^{43,46,47}.

D. Propiedades medicinales

Las plantas de su mismo género presentan propiedades como expectorantes en caliente los extractos etanólicos totales de las hojas y las flores tienen propiedades vasoconstrictoras y desinfectantes. Infección vaginal e intestinal, heridas y quemaduras y algunas referencias mencionan que pueden curar el cáncer ⁴².

2.3. Aspecto químico

2.3.1. Composición química de *Anacardium occidentale* L

El pseudofruto tiene una composición de 40-57% de lípidos, 23-25% de carbohidratos y 20-25% de contenido de proteína, de los lípidos, el 61% son ácidos grasos monoinsaturados y el 17% son ácidos grasos poliinsaturados ^{48,49}.

Mientras que el fruto posee ácidos anacárdicos que constituyen el 90 % del fruto, entre los que están los cardanoles, cardoles y 2- metil cardol conocidos como alquil fenoles ⁵⁰. Además en la parte proteica del pseudofruto de anacardium se encontró albúmina, globulina, y se han hallado también grandes cantidades de aminoácidos como treonina, valina⁵¹. Sus hojas son ricas en polifenoles, triterpenoides, cumarinas, flavonoides, esteroides, taninos, saponinas y ácido ascórbico ^{13,17, 29}.

2.3.2. Composición química de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.

Se menciona que posee taninos, saponinas, rutina, emodina, ácido crisofánico, antraquinona-O-glucósidos, lectinas, flavonoides y fenoles ^{40, 52, 53}.

También algunos hidrocarburos como terpenos, ácidos grasos, alcoholes, esteroides, compuestos aromáticos y ésteres, entre otros ⁵⁴.

2.3.3. Composición química de *Gamochaeta purpurea* (L.)

Las especies pertenecientes al género *Gamochaeta*, pueden presentar fenoles como derivados del resorcinol, ácidos fenólicos (gentil, siringico, p-hidrobencico y vanílico) ⁵⁵, cumarinas, ácido cafeico, alcaloides, lignanos y lactonas ⁵⁶.

2.4. Actividad antioxidante

A. Radicales libres

Los radicales libres son átomos que tienen un electrón desapareado, por lo que son muy reactivos, ya que tienden a captar un electrón de otros átomos con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón (reducción) que necesita, la molécula estable que lo pierde (oxidación) se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una reacción en cadena. Hay distintos tipos de radicales libres, tales como: especies reactivas de oxígeno (ERO: el anión superóxido, el anión peróxido, el radical hidroxilo) y especies reactivas de nitrógeno (ERN: óxido nítrico, radical peroxinitrito). También los radicales libres también son generados por factores como: la contaminación ambiental, la exposición a radiaciones ionizantes, el tabaco, los medicamentos, los aditivos químicos en alimentos procesados y algunos xenobióticos como pesticidas y fungicidas ⁵⁷. Los radicales libres se producen generalmente en la célula a través de reacciones de transferencia de electrones, con o sin participación enzimática, pero mediada por iones metálicos como Cu^{+2} y Fe^{+2} . Los mecanismos por los cuales se generan son tres: a) Transferencia electrónica, b) Pérdida de un protón de una molécula, c) Ruptura homolítica de un enlace covalente de cualquier molécula.

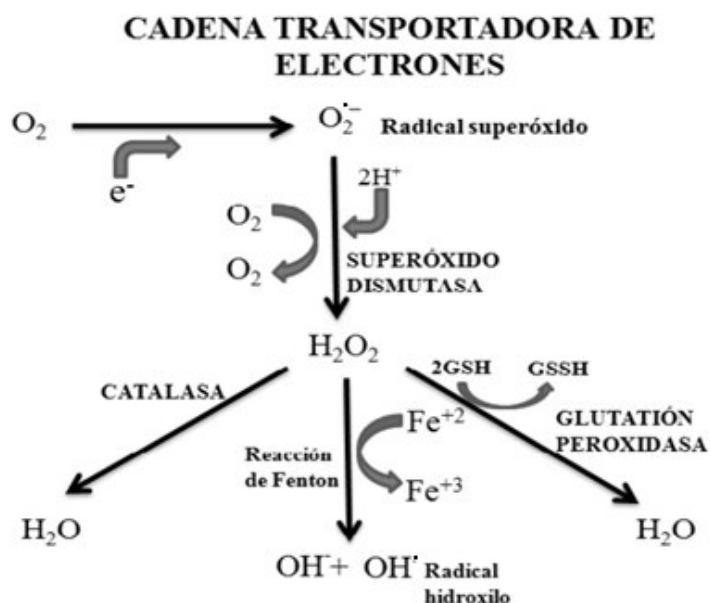


Figura 4. La cadena de transporte de electrones mitocondrial es considerada la mayor fuente de formación de radicales libres.

Los radicales libres constituyen un riesgo, especialmente para las células y las biomoléculas, como los ácidos nucleicos, las proteínas, polisacáridos y lípidos ⁵⁸.

B. Antioxidantes

Esencialmente, las defensas antioxidantes se dividen en dos grandes grupos: enzimáticos y no enzimáticos; el primer grupo se destacan la catalasa, superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, entre otras. El grupo no enzimático, como segunda línea de defensa, está constituida por glutatión reducido, ácido úrico, transferrina, bilirrubina, carotenoides como la vitamina A, vitamina E, vitamina C, melatonina, entre otros ⁵⁸. Además, se debe destacar la función del selenio como elemento esencial y cofactor para la actividad de la glutatión peroxidasa, donde sus deficiencias pudieran inducir modificaciones del estado oxidativo celular y a la aparición de enfermedades ⁵⁹.

Una vez superados los mecanismos antioxidantes del organismo es imposible inactivar la reactividad química de las ERO o ERN, presentándose el estado metabólico de estrés oxidante, es por ello que los radicales libres están asociados a muchas patologías en el ser humano, como procesos reumáticos, neurológicos,

endócrinas, broncopulmonares, entre muchas otras; las más destacadas son las cardiopatías, cáncer y diabetes ⁵⁸.

2.5. Compuestos polifenólicos

Los compuestos polifenólicos (CPF) son metabolitos secundarios de las plantas que poseen en su estructura al menos un anillo aromático al que está unido uno o más grupos hidroxilo, éstos se clasifican según su estructura química como fenoles simples, ácidos hidroxibenzoicos, flavonoides, etc.⁶⁰. Además poseen dobles enlaces conjugados a partir de los cuales ejercen su acción antioxidante, también aparecen en formas conjugadas (glicósidos) con uno o más restos de azúcares unidos a grupos hidroxilo o directamente al anillo aromático. La estructura y cantidad de los CPF está estrechamente ligada a su acción biológica ⁶¹.

Dentro de los CPF, los flavonoides tienen dos anillos aromáticos unidos por una cadena de tres átomos de carbono ($C_6C_3C_6$). Por su parte, los taninos son compuestos poliméricos más complejos que se clasifican en hidrolizables (constituidos por ácido elágico y están unidos a una glucosa) y condensados (resultan de la condensación de unidades de flavan-3-oles). Los CPF son sustancias biológicamente activas y existen numerosas evidencias de que estos compuestos proporcionan beneficios al organismo, entre sus propiedades benéficas están la protección contra lesiones celulares y subcelulares, inhibición del crecimiento de tumores, activación de los sistemas de detoxificación hepáticos y bloqueo de las vías metabólicas que pueden ocasionar carcinogénesis ⁶².

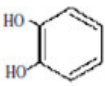
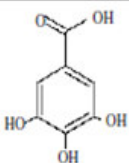
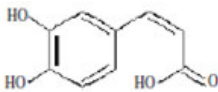
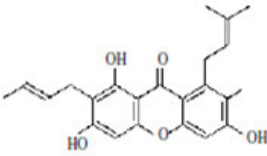
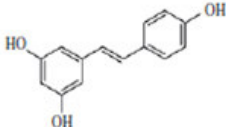
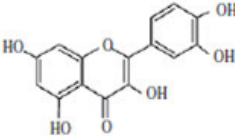
Clase	Estructura	Ejemplo	Clase	Estructura	Ejemplo
Fenoles simples	C_6	 Catecol	Ácidos hidroxibenzoicos	C_6-C_1	 Ácido gálico
Ácidos hidroxicinámicos	C_6-C_3	 Ácido caféico	Xantomas	$C_6-C_1-C_6$	 Mangostina
Estilbenos	$C_6-C_2-C_6$	 Resveratrol	Flavonoides	$(C_6-C_3-C_6)$	 Quercetina

Figura 5. Clasificación de algunos compuestos polifenólicos según su estructura química ⁶².

Tabla 1. Compuestos polifenólicos más comunes en vegetales ⁶¹.

Compuestos polifenólicos	
Fenoles simples	Catecol, cardanol, cardol
Acido hidroxibenzoico	Ácido gálico, ácido anacárdico, ácido tánico
Flavonoides	Quercetina
	Miriticetina
Estilbenos	Resveratrol

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

Experimental, cuantitativo, prospectivo y transversal.

3.2. Entidad donde se desarrolló la investigación

La obtención del extracto hidroalcohólico, la marcha fitoquímica, la determinación de la actividad antioxidante (DPPH• y ABTS•+) y la cuantificación de compuestos polifenólicos se desarrollaron en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmaceuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.3. Flujograma del trabajo experimental

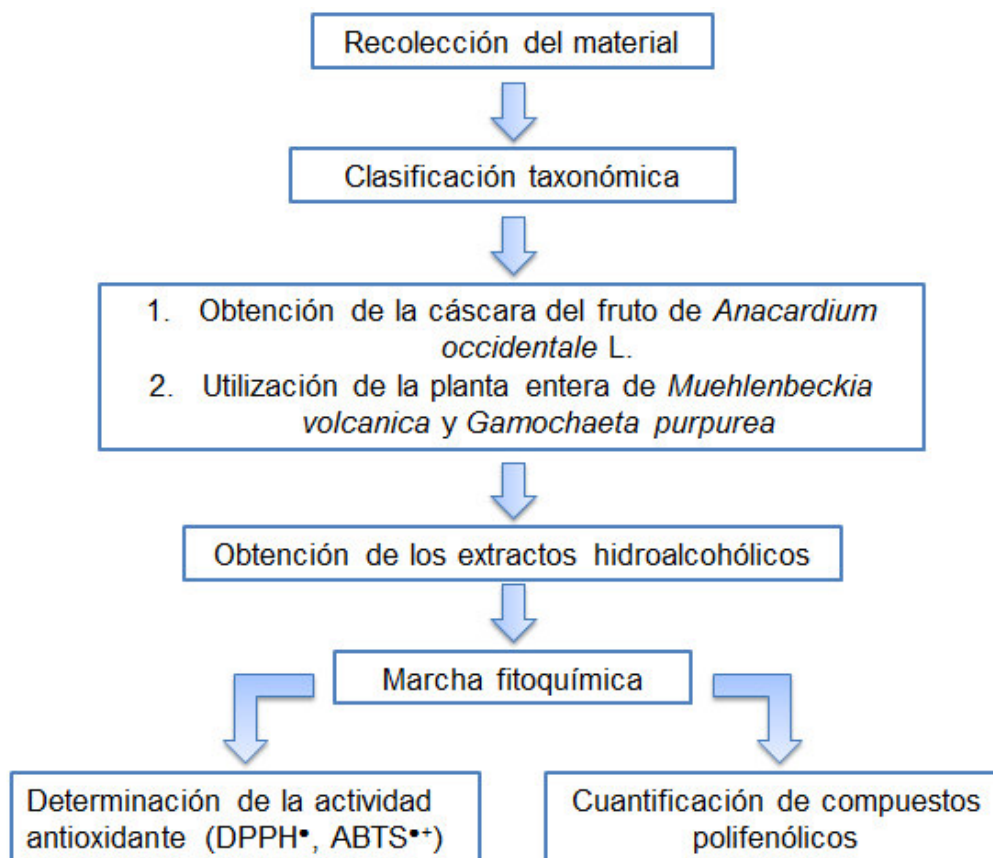


Figura 6. Diseño del trabajo experimental

3.4. Materiales

3.4.1 Materiales, equipos, reactivos y materias primas.

Materiales

Baguetas, beakers, probetas de 10 y 50 mL, cubetas para espectrofotómetro, embudo simple, frascos ámbar de 1L, fioles 25, 100mL, matraz Erlenmeyer 250mL, micropipetas, papel filtro whatman, soporte universal, gradillas, algodón, mortero y pilón, pipetas de 1, 5 y 10mL, puntas sueltas de (20 – 200 µL) y (100-1000 µL), tubo de ensayos, guantes de látex, papel aluminio.

Equipos

Balanza analítica electrónica modelo Ohaus® Pioneer Chaus Corporation USA, estufa modelo Barnstead Lab-Line, espectrofotómetro Thermo Scientific TM GENESYS 10S UV-Vis, refrigeradora Samsung Modelo ES21HKLMR, molino de discos, cronómetro, cocinilla eléctrica.

Reactivos y materias primas

Alcohol etílico 96%, agua bidestilada, agua destilada, metanol absoluto (Sigma), metanol al 70%, Trolox ® (Aldrich), ABTS (Sigma), persulfato potásico (Sigma-Aldrich), DPPH (Aldrich), shinoda, cloruro férrico, gelatina, Bertrand, Mayer, Dragendorff, Wagner, Liebermann/Burchard, Salkowsky, Bornträger, reactivo Folin-Ciocalteu (Sigma- Aldrich) 2N, carbonato de sodio 7,5 %, ácido gálico (Sigma-Aldrich) .

3.4.2. Materiales biológicos

La colecta de *Anacardium occidentale* L se realizó en el departamento de San Martín, provincia de San Martín en el distrito de Chazuta, a una altitud de 260 msnm.

La colecta de *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl se realizó en el departamento de Ancash, provincia de Yungay en el distrito de Mancos, cuya altitud es de 2500 msnm.

La colecta de la *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera. se realizó en el departamento de Ancash, provincia de Huari en el distrito de Huari, localizado en el valle Q. Huari Rurichinchay cuya altitud es de 3950 msnm.

3.5. Métodos

3.5.1. Procesamiento de las muestras

Las tres especies botánicas colectadas fueron lavadas con agua, en *Anacardium occidentale* L, se seleccionó el fruto para la preparación del extracto, mientras que para *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera se seleccionó la parte entera de la planta, los pesos correspondientes a las muestras frescas fueron 64 g, 700 g y 600 g, respectivamente.

Las tres especies fueron acondicionadas en el Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, donde se llevó a secar en una estufa a 37 ± 2 °C por 48 horas. Una vez secadas las muestras se sometieron a un proceso de reducción de tamaño de partícula, en el caso de *Anacardium occidentale* L. se realizó por medio de un mortero y pilón debido a la alta dureza de la cáscara, retirándola manualmente, mientras que para *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea* se realizaron a través de un molino de discos manual hasta obtener un polvo fino.

Las colectas de las plantas se realizarón de forma manual por ser mucho más selectiva, bajo esta forma de recolección se tomaron en cuenta los factores que pueden afectar a la planta como época del año, momento del día, etc ⁶³.

3.5.2. Elaboración de los extractos hidroalcohólicos

Se trabajó con 36 gramos de la cáscara de los frutos secos triturados de *Anacardium occidentale* L, donde se obtuvo pedazos, mientras que para *Muehlenbeckia volcanica* se trabajó con 250 g y para *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera con 135 g, éstos dos últimos constituyéndose de polvo fino seco, las tres especies fueron sometidas a una extracción con 0,18 L ; 1,3L y 1,2 L de solución hidroalcohólica (agua y etanol 96% en una proporción de 3:7) respectivamente, con la finalidad de obtener una mayor concentración de compuestos polifenólicos y otros compuestos antioxidantes ⁶⁴.

El método de obtención de los principios activos fue por extracción con disolventes de forma discontinua, la cual consistió en sumergir la droga en el disolvente, por lo que la totalidad de la droga contactó con el disolvente utilizado, para que la difusión de principios activos se produjera en todas las direcciones, dentro de este método está el procedimiento de maceración⁶³.

Las tres especies se maceraron durante 7 días con agitación, los macerados se conservaron en frascos de color ámbar y fueron guardados en la oscuridad a temperatura ambiente (18°C – 25°C). Luego se filtró con papel Whatman N°1 y se concentró en una estufa a 37 ± 2 °C hasta sequedad, obteniéndose extractos secos, cuyos pesos fueron 5 g; 19,86 g y 12,22 g de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* y *Gamochaeta purpurea*, respectivamente.

3.5.3. Marcha fitoquímica

El análisis fitoquímico se realizó basándose en la metodología de Lock O, el cual consiste en el desarrollo de una serie de procedimientos para la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos en las plantas, tales como, alcaloides, flavonoides, antocianinas, saponinas, etc, basados en la extracción de éstos con solventes apropiados y en la aplicación de pruebas de coloración y precipitación⁵³.

3.5.4. Cuantificación de los compuestos polifenólicos

Para la determinación de compuestos polifenólicos se realizó según el método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteau⁶⁵, en el cual los polifenoles de una muestra se miden colorimétricamente usando el reactivo de Folin-Ciocalteu, éste contiene molibdato y tungstato sódico que reaccionan con los polifenoles de la muestra formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}) que tienen un máximo de absorción a 765nm. Se utilizó el ácido gálico como estándar y se realizó una curva de calibración a las concentraciones de 10; 20; 30 y 50 µg/mL. Se mezclaron $0,200 \pm 0,001$ g de

extracto seco con 5 mL de metanol 70 % v/v y se llevó a baño maria a 70 °C durante 10 min, luego de alcanzar la temperatura ambiente los extractos fueron centrifugados (3500rpm/min por 10 min) y los sobrenadantes fueron recolectados, se repitió la centrifugación hasta que no se visualizó el precipitado, dicho sobrenadante se ajustó con 10 mL de metanol al 70 % v/v a temperatura ambiente ⁶⁶. Para la determinación de los compuestos polifenólicos se usó una dilución acuosa a partir de 4ml (obtenido del preparado de 10ml con metanol 70%) hasta completar con 100mL de agua destilada, las concentraciones de cada extracto se evaluaron por triplicado, éstos fueron leídos por espectrofotómetro a 765nm.

3.5.5. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos

3.5.5.1. Captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•)

El método de Captación del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) se realizó siguiendo la metodología de Brand-Williams ⁶⁷, el cual consiste en lo siguiente: el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH•) es de coloración violeta; en presencia de una sustancia captadora de radicales libres el compuesto reacciona y se decolora hacia amarillo pálido. La reducción del reactivo es seguida midiendo la disminución de la absorbancia espectrofotométricamente a 517nm. La preparación de solución stock fue de 20mg de 2,2-Difenil-1-picrilhidracil (DPPH•) en 50mL de metanol absoluto y almacenado a 4°C protegiéndola de la luz. Se calibró el espectrofotómetro con un blanco que contiene 400 µL del solvente de la muestra problema y 800 µL de metanol, luego se colocó en un tubo de ensayo 400 µL de la muestra problema y 800 µL de la solución de trabajo de (DPPH•), éste ultimo se preparó a partir de la solución stock diluyendolo en metanol hasta obtener una absorbancia entre 0,600 – 0,700 a 517nm.

Luego se agitó las muestras y se dejó en reposo durante 30 minutos alejado de la luz a temperatura ambiente (18°C – 25 °C) y culminado el tiempo se leyó la absorbancia a 517 nm. Todos los extractos fueron medidos por triplicado a diferentes concentraciones. El mismo procedimiento se realizó para la sustancia

patrón Trolox®. Con los valores de absorbancia obtenidas se determinó el porcentaje de captación de radicales libres mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición} = \frac{(\text{Abs. DPPH}^{\bullet} - \text{Abs. muestra}) \times 100}{\text{Abs. DPPH}^{\bullet}} \quad (\text{DPPH}^{\bullet}),$$

El IC₅₀ se determinó a partir de la gráfica del porcentaje de inhibición en función de la concentración, y corresponde a la concentración en la que se neutraliza el 50% de los radicales libres del DPPH•.

3.5.5.2. Captación del radical ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico (ABTS•+).

El método de Captación del radical ácido 2,2'-azinobis 3- etilbenzotiazolín-6-Sulfónico (ABTS•+) se realizó basándose en la metodología desarrollada por RE et al ⁶⁸ y descrita por Kuskoski et al ⁶⁹. El radical catiónico ABTS•+ es un cromóforo de color verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y se genera por una reacción de oxidación del ABTS•+ (7mM) (2,2'-azinobis-3-etilbenzotiazolín-6-sulfónico) con persulfato de potasio (2,45mM), incubados a temperatura ambiente (18°C – 25°C) y en la oscuridad durante 16 horas, una vez formado el radical activo ABTS•+ (solución stock) se diluye con agua bidestilada hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,7 ± 0,02 a 734 nm para así, obtener la solución trabajo.

Se calibró el espectrofotómetro con un blanco que contiene 20µL del solvente de la muestra problema (agua y etanol 96% en una proporción de 3:7) y 980µL de agua bidestilada. Se colocó en unos tubos de ensayo (por triplicado) 20µL de la muestra problema y 980µL de la solución de trabajo de ABTS•+, se agitó y se dejó en reposo durante 7 minutos alejados de la luz a temperatura ambiente. La reducción del ABTS•+, fue leído espectrofotométricamente a 734 nm. Se elaboró la curva estándar de Trolox®, con los resultados se determinó el IC₅₀ a partir de la gráfica del porcentaje de inhibición en función de la concentración ⁷⁰, mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición} = \frac{(\text{Abs. ABTS}^{\bullet+} - \text{Abs. muestra}) \times 100}{\text{Abs. ABTS}^{\bullet+}}$$

3.5.6. Análisis estadístico

Los resultados son expresados en promedios para todas las mediciones obtenidas. Se realizó mediante el análisis de varianza (ANOVA) seguido de una prueba de Tuckey, con un nivel de confianza de 95 % ($p \leq 0.05$) empleando el programa SPSS versión 23. (Anexo 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11)

IV. RESULTADOS

4.1. Análisis fitoquímico

En el análisis fitoquímico se evidenció la presencia de flavonoides y fenoles, taninos, antraquinonas y saponinas en los extractos estudiados. En las tres especies se resalta la presencia de flavonoides y fenoles. En la cáscara de *Anacardium occidentale* L. se acentúa la ausencia de taninos y leve presencia de saponinas y moderada presencia de antraquinonas. En las tres especies hay ausencia de alcaloides, esteroides y terpenoides.

Tabla 2: Análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos.

Reactivo	Metabolitos secundarios	Especies en estudio		
		<i>Anacardium occidentale</i> L	<i>Muehlenbeckia volcanica</i>	<i>Gamochaeta purpurea</i> (L.)
Shinoda	Flavonoides	(+)	(+)	(+)
Cloruro férrico	Fenoles	(+)	(+)	(+)
Gelatina	Taninos	(-)	(+)	(+)
Bertrand	Alcaloides	(-)	(-)	(-)
Mayer	Alcaloides	(-)	(-)	(-)
Dragendorff	Alcaloides	(-)	(-)	(-)
Wagner	Alcaloides	(-)	(-)	(-)
Lieberman /Burchard	Esteroides	(-)	(-)	(-)
Salkonsky	Terpenoides	(-)	(-)	(-)
Bornträger	Antraquinonas	(+)	(-)	(-)
Indice afrosimétrico	Saponinas	(+)	(-)	(-)

Leyenda: Presencia (+); Ausencia (-).

4.2. Estudio químico

4.2.1. Cuantificación de compuestos polifenólicos

Tabla 3. Resultados de los compuestos polifenólicos de las tres muestras estudiadas y su desviación estándar.

Muestras	Concentraciones de los extractos (µg/mL)	mg equivalentes a ácido gálico/g de extracto seco ^a	Equivalente a ácido gálico/extracto seco (%)
<i>Anacardium occidentale</i> L.	560	6,369 ± 0,27	0.64
<i>Muehlenbeckia volcanica</i>	186,4 ^(b)	53,306 ± 0,57	5.33
<i>Gamochaeta purpurea</i>	134,8 ^(b)	68,916 ± 2,93	6.89

(^a) Contenido polifenólico promedio (n=3), expresado en mg equivalentes de ácido gálico / g de extracto seco ± DE (desviación estándar). (^b) Se utilizó un peso inicial de 0,05 g de extracto seco para su lectura en el espectrofotómetro.

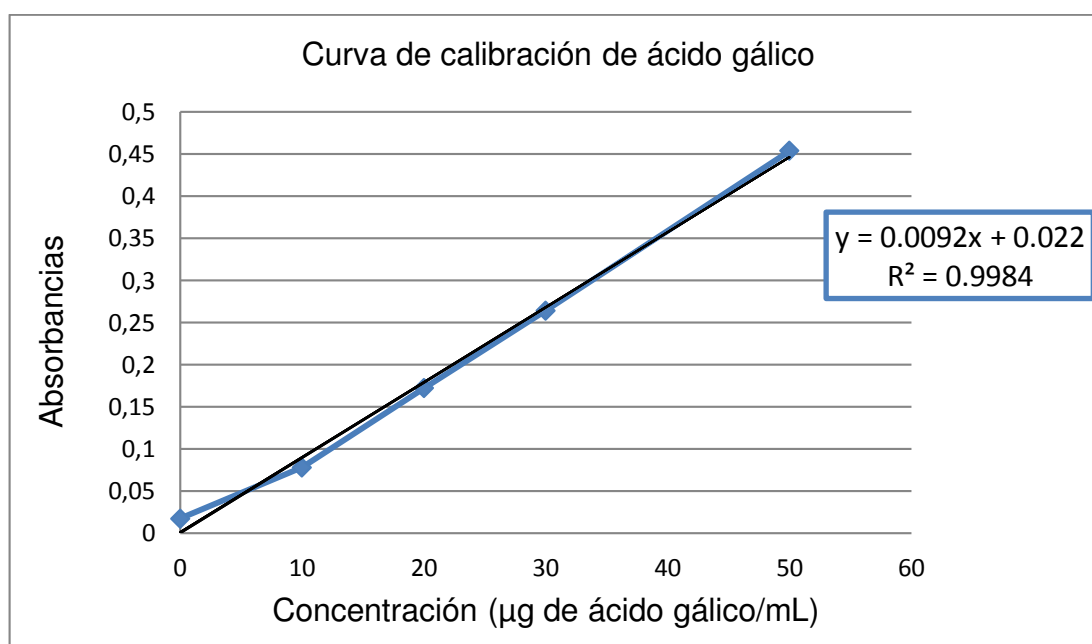


Figura 7. Curva de calibración de ácido gálico.

4.1.2. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale* L. por el método DPPH•.

En la tabla 4 se presentan los resultados de la actividad antioxidante por DPPH•

Tabla 4. Resultados de las actividad antioxidante del extracto “pepa de marañón” por el método de DPPH•.

Extracto hidroalcohólico (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517nm (*).	DPPH• (%Inhibición)
0	(a) 0,467 ± 0,008	0
3	(b) 0,414 ± 0,003	11,35
13	(c) 0,287 ± 0,006	38,54
27	(d) 0,154 ± 0,006	67,02
37	(e) 0,03 ± 0,003	93,58
IC ₅₀ (µg/mL)		19,29

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 4)

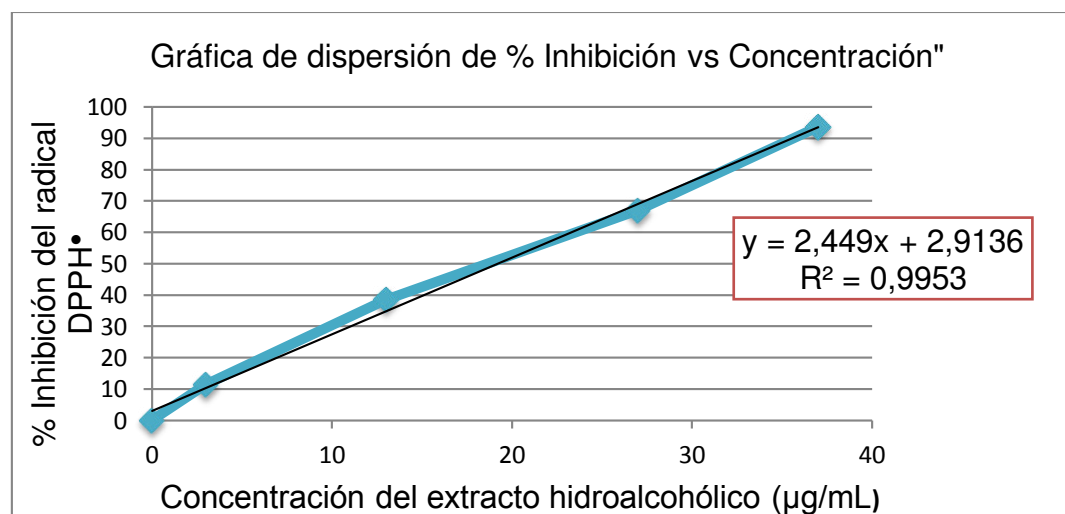


Figura 8. Correlación entre extractos hidroalcohólico de la cáscara de la “pepa de marañón” vs % de inhibición del radical DPPH• .

4.1.3. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Anacardium occidentale* L. por el método ABTS^{•+}.

En la tabla 5, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por ABTS^{•+}.

Tabla 5. Resultados de las actividad antioxidante del extracto “pepa de marañón” por el método de ABTS^{•+}

Extracto hidroalcohólico (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734nm (*) .	ABTS ^{•+} (%Inhibición)
0	(a) 0,661 ± 0,005	0
0,8	(a) 0,632 ± 0,002	4,40
1,6	(b) 0,553 ± 0,037	16,42
4	(c) 0,439 ± 0,011	33,64
8	(d) 0,207 ± 0,012	68,69
IC ₅₀ (µg/mL)		5,83

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras

diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 5).

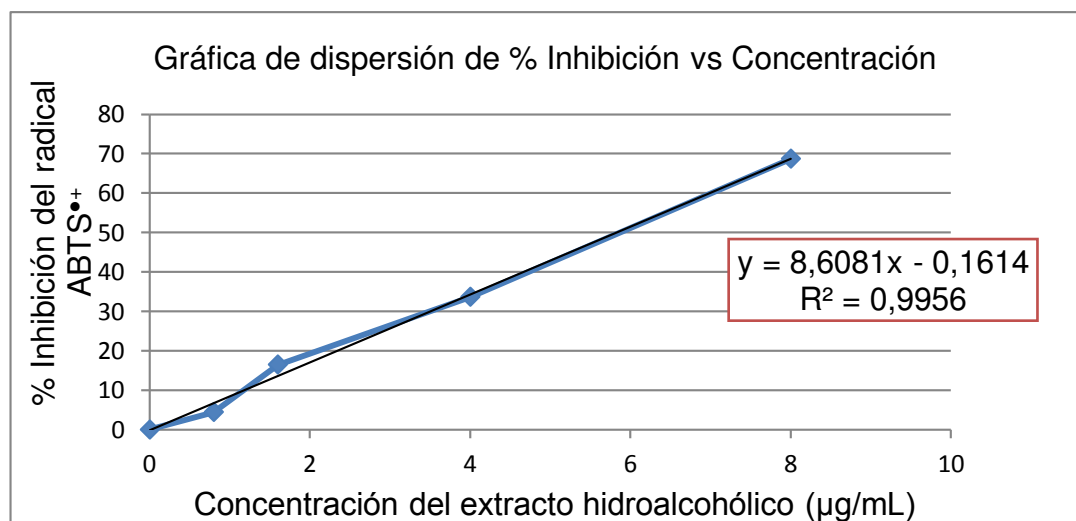


Figura 9. Correlación entre extractos hidroalcohólico cáscara de la “pepa de marañón” vs % de inhibición del radical ABTS^{•+}.

4.1.4. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia volcanica* por el método DPPH•.

En la tabla 6, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por DPPH•

Tabla 6. Resultados de las actividad antioxidante del extracto “mullaca” por el método de DPPH•.

Extracto hidroalcohólico (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm (*) .	DPPH • (%Inhibición)
0	(a) $0,457 \pm 0,015$	0
13,33	(b) $0,275 \pm 0,012$	39,82
20	(c) $0,184 \pm 0,009$	59,66
26,67	(d) $0,115 \pm 0,003$	74,84
33,33	(e) $0,042 \pm 0,006$	90,88
IC ₅₀ (µg/mL)		17,55

(*) Datos expresados en media \pm SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. ($P \leq 0.05$). (ANEXO 6)

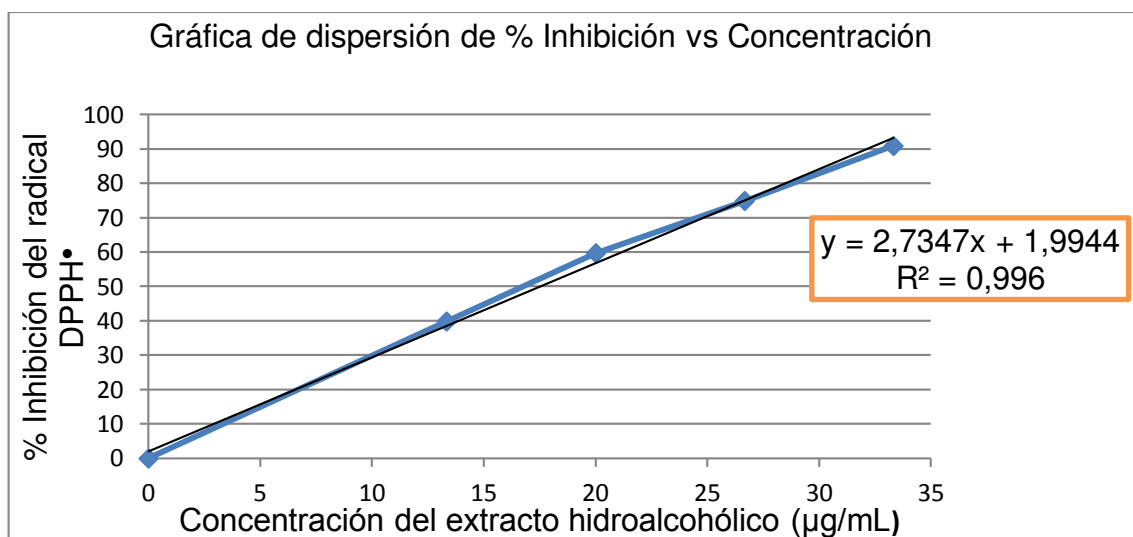


Figura 10. Correlación entre extractos hidroalcohólico de “mullaca” vs % de inhibición del radical DPPH•.

4.1.5. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Muehlenbeckia volcanica* por el método ABTS^{•+}.

En la tabla 7, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por ABTS^{•+}.

Tabla 7. Resultados de las actividad antioxidante del extracto de “mullaca” por el método de ABTS^{•+}.

Extracto hidroalcohólico (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734 nm (*) .	ABTS ^{•+} (%Inhibición)
0	(a) 0,449 ± 0,001	0
3	(b) 0,369 ± 0,011	19,61
6	(c) 0,170 ± 0,005	62,96
8	(d) 0,088 ± 0,001	80,83
11	(e) 0,010 ± 0,001	97,82
IC ₅₀ (µg/mL)		5,43

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 7).

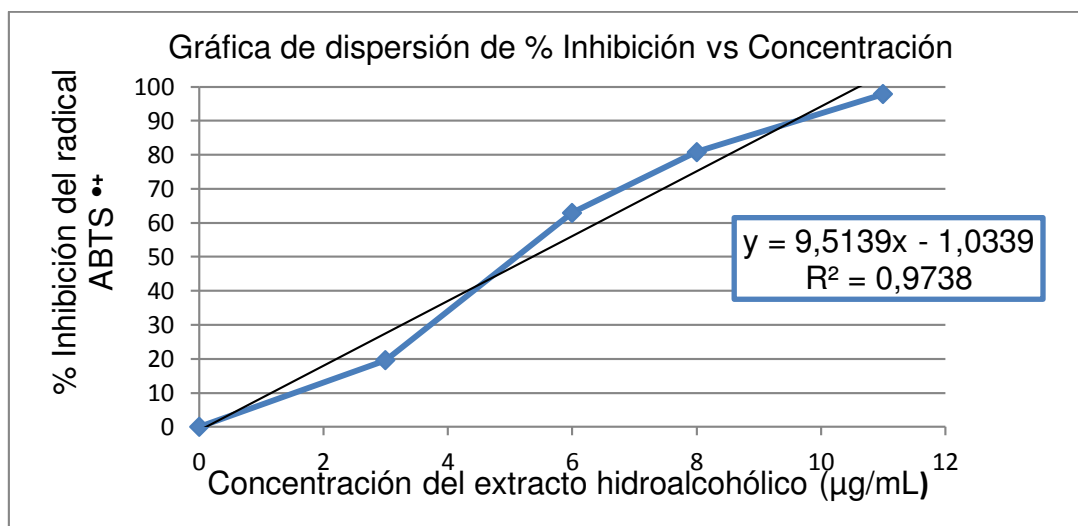


Figura 11. Correlación entre extractos hidroalcohólico de “mullaca” vs % de inhibición del radical ABTS^{•+}.

4.1.6. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera por el método DPPH•.

En la tabla 8, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por DPPH•

Tabla 8. Resultados de las actividad antioxidante del extracto “mullaca” por el método de DPPH•.

Extracto hidroalcohólico (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm (*) .	DPPH • (%Inhibición)
0	(a) 0,402 ± 0,001	0
2,08	(b) 0,263 ± 0,004	34,58
4,17	(c) 0,196 ± 0,005	51,24
6,23	(d) 0,094 ± 0,004	76,53
8,33	(e) 0,038 ± 0,001	90,55
IC ₅₀ (µg/mL)		4,11

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 8).

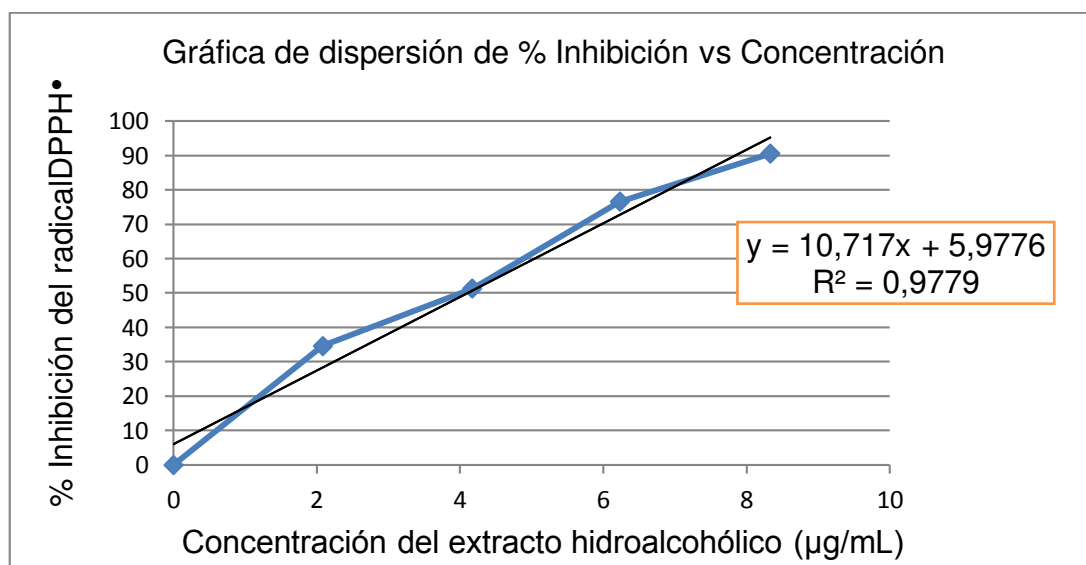


Figura 12. Correlación entre extractos hidroalcohólico de “keto keto” vs % de inhibición del radical DPPH•.

4.1.7. Determinación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera por el método ABTS^{•+}.

En la tabla 9, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por ABTS^{•+}.

Tabla 9. Resultados de las actividad antioxidante del extracto de “keto keto” por el método de ABTS^{•+}.

Extracto hidroalcohólico (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734 nm (*)	ABTS ^{•+} (%Inhibición)
0	(a) 0,684 ± 0,002	0
1	(b) 0,517 ± 0,003	24,38
3	(c) 0,460 ± 0,01	32,72
8	(d) 0,191 ± 0,004	72,01
10	(e) 0,092 ± 0,011	86,49
IC ₅₀ (µg/mL)		5,26

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 9)

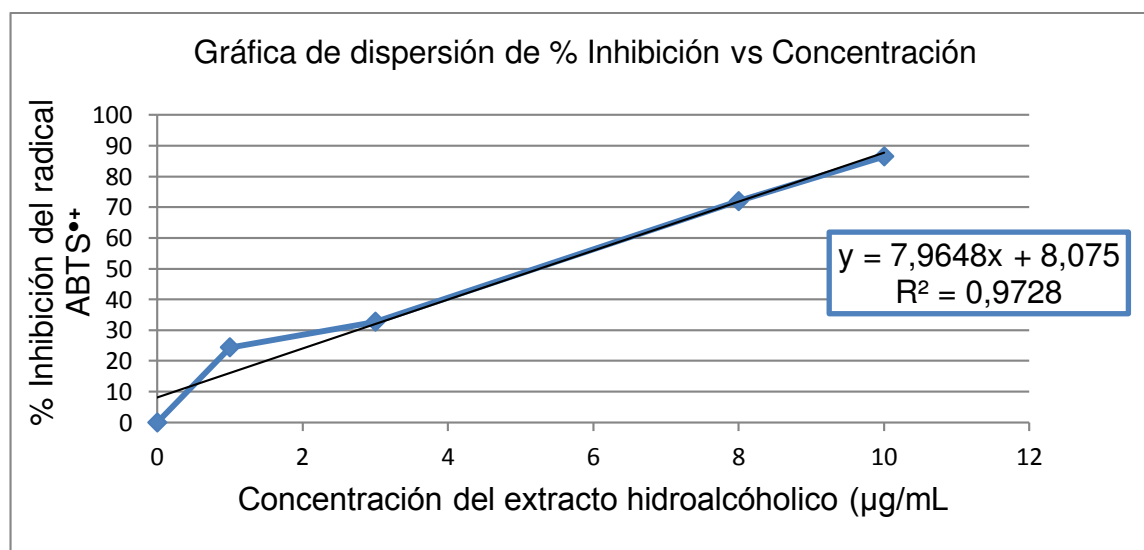


Figura 13. Correlación entre extractos hidroalcohólico de “keto keto” vs % de inhibición del radical ABTS^{•+}.

4.1.8. Determinación de la actividad antioxidante del Trolox[®] por el método DPPH[•].

En la tabla 10, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por DPPH[•]

Tabla 10. Resultados de la actividad antioxidante de Trolox[®] por el método DPPH[•]

Solución patrón (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 517 nm (*) .	DPPH [•] (%Inhibición)
0	(a) 0,417 ± 0,002	0
0,67	(b) 0,314 ± 0,004	24,78
1,33	(c) 0,245 ± 0,006	41,17
2,67	(d) 0,103 ± 0,003	75,22
3,33	(e) 0,049 ± 0,001	88,25
IC ₅₀ (µg/mL)		1,76

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 10).

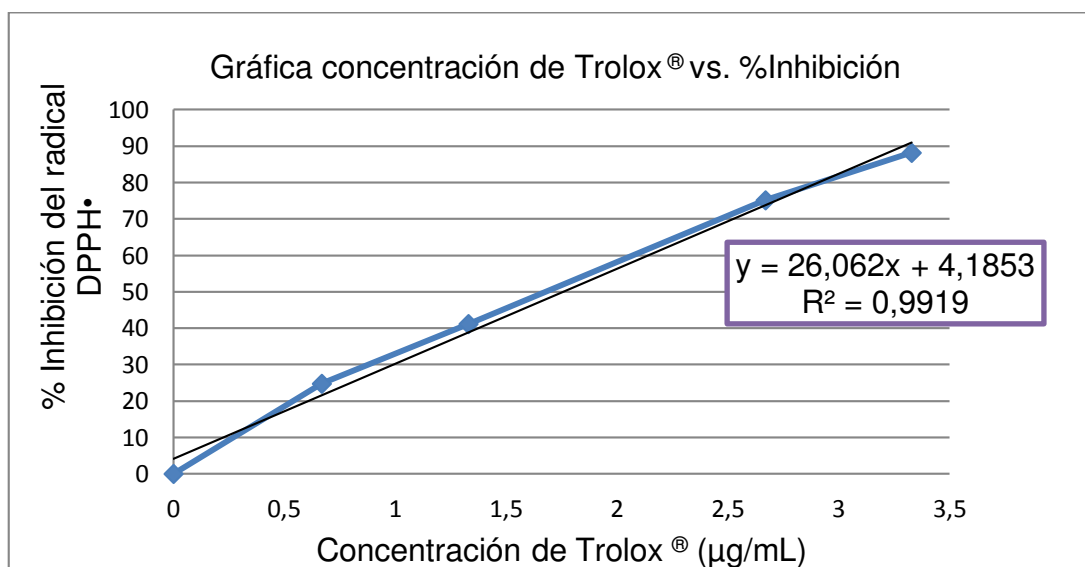


Figura 14. Correlación entre solución patrón de Trolox[®] vs % de inhibición del radical DPPH[•].

4.1.9. Determinación de la actividad antioxidante del Trolox[®] por el método ABTS^{•+}.

En la tabla 11, se presentan los resultados de la actividad antioxidante por ABTS^{•+}

Tabla 11. Resultados de la actividad antioxidante de Trolox[®] por el método de ABTS^{•+}.

Solución patrón (µg/mL)	Promedio de las absorbancias a 734 nm (*) .	ABTS ^{•+} (%Inhibición)
0	(a) 0,696 ± 0,004	0
0,8	(b) 0,586 ± 0,02	15,82
1,2	(c) 0,531 ± 0,021	23,73
1,6	(d) 0,489 ± 0,015	29,71
3	(e) 0,300 ± 0,002	56,88
IC ₅₀ (µg/mL)		2,63

(*) Datos expresados en media ± SD, n=3. Las medias seguidas de letras diferentes indican que existe diferencia significativa entre si, usando método de Tukey con un nivel de confianza al 95%. (P≤0.05). (ANEXO 11)

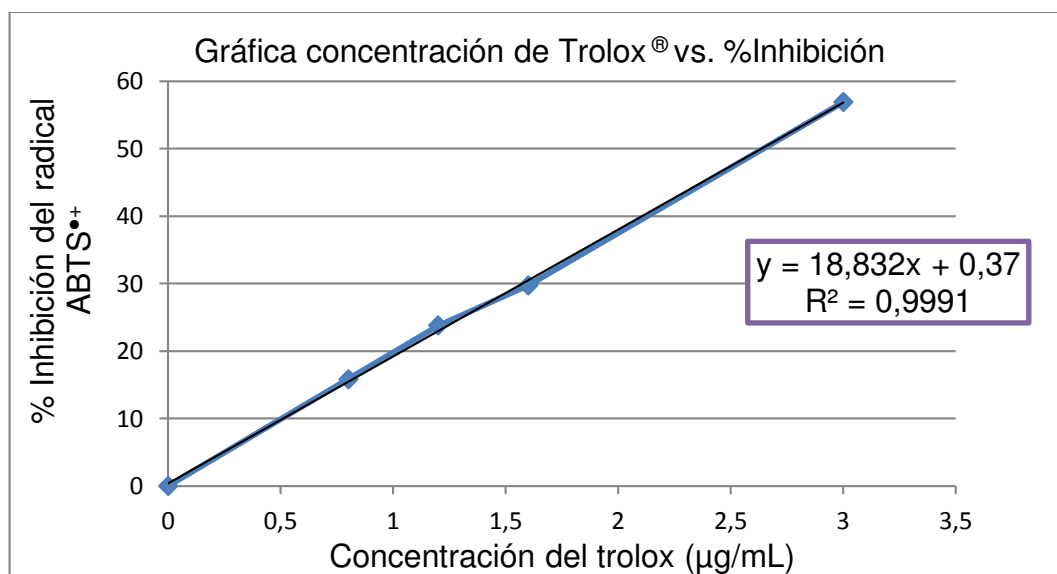


Figura 15. Correlación entre solución patrón de Trolox[®] vs % de inhibición del radical ABTS^{•+} .

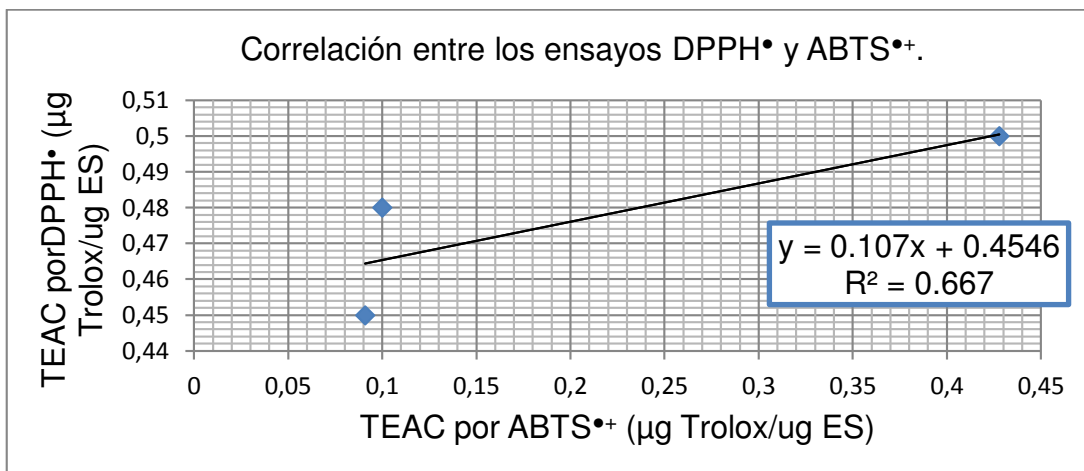


Figura 16. Correlación entre capacidad antioxidante (TEAC, µg Trolox/µg ES) determinados por los ensayos DPPH• y ABTS•+.

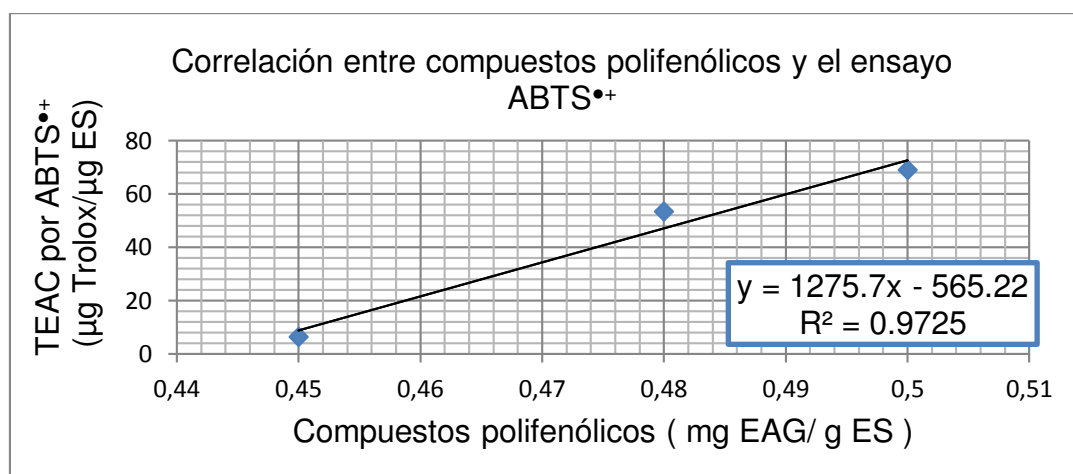
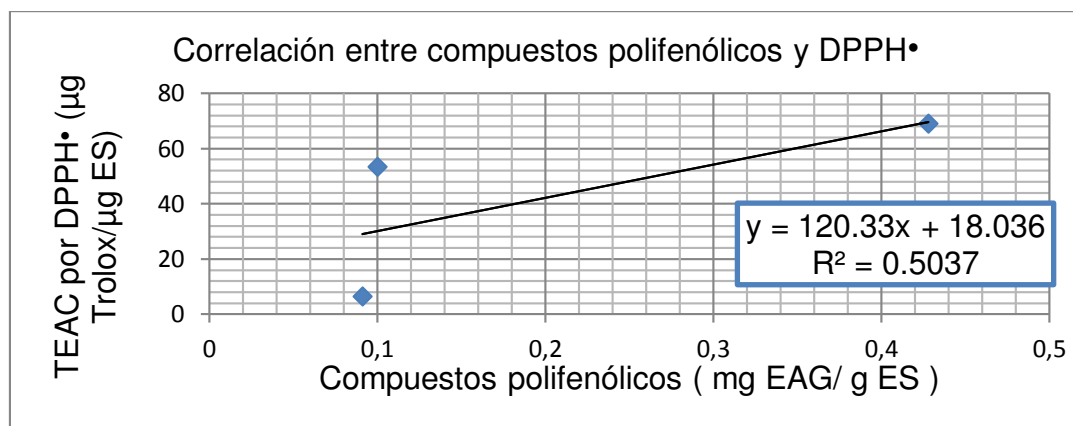


Figura 17. Correlación entre los compuestos polifenólicos y los ensayos ABTS•+ y DPPH•.

Tabla 12. Rendimientos de los extractos secos y contenido de compuestos polifenólicos expresados en miligramos de ácido gálico por gramo de muestra seca.

Muestras	Pesos (g)		Rendimiento (g extracto seco/g muestra seca)	mg EAG/g MS ± DE ^a
	Muestra seca	Extracto seco		
<i>Anacardium occidentale</i> L.	36	5	0,138	3,97 ± 0.17
<i>Muehlenbeckia volcanica</i>	250	19,86	0,079	4,21 ± 0,045
<i>Gamochaeta purpurea</i>	135	12,22	0,09	6,20 ± 0,263

^a Contenido polifenólico promedio (n=3), expresado en mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g de muestra seca (MS) ± DE (desviación estándar).

Tabla 13. Resumen de los resultados expresados por peso de extracto seco.

MUESTRAS	DPPH•		ABTS•+		mg EAG/ g ES ± DE ^b
	IC ₅₀ (μg/mL)	TEAC (μg trolox/ug extracto)	IC ₅₀ (μg/mL)	TEAC (μg trolox/ug extracto)	
<i>Anacardium occidentale</i> L.	19,29	0,091	5,83	0,45	6,369 ± 0,27
<i>Muehlenbeckia volcanica</i>	17,55	0,100	5,43	0,48	53,306 ± 0,57
<i>Gamochaeta purpurea</i>	4,11	0,428	5,26	0,5	68,916 ± 2,93
Trolox®	1,76	1	2,63	1	

^b Contenido polifenólico promedio (n=3), expresado en mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/ g de extracto seco (ES) ± DE (desviación estándar).

V. DISCUSIÓN

En nuestro estudio la obtención del extracto de la cáscara de los frutos de *A. occidentale* L. fue realizado por el proceso de maceración hidroalcohólica. Otros autores reportaron el uso de n-hexano, metanol y un extractor solido-liquido ⁵⁰, Bolelli *et al* ⁷¹ usaron agua y etanol en el pseudofruto de *A. occidentale* L. y extracción al vacío.

El lavado de nuestro fruto de *A. occidentale* L. fue a chorro de agua, posteriormente se llevó a secar a temperatura ambiente (18°C – 25 °C). Una vez secadas, las muestras fueron trituradas por medio de un mortero y pilón, y se retiró la cáscara manualmente. El lavado puede realizarse con una solución de hipoclorito de sodio al 1 % y congelando la extracción del jugo del fruto a -20 °C para su almacenamiento, en ésta etapa también se puede usar un matraz erlenmeyer cubierto con papel aluminio, dejándose reposar 48 horas a temperatura ambiente (18°C – 25 °C) bajo atmósfera de nitrógeno ⁷².

En el estudio de Vasudeva *et al* ⁷³, realizaron el secado al sol de los frutos *A. occidentale* L, luego los pulverizaron por un molino, y lo pasaron a través de un tamiz de 0,5 mm para obtener un polvo fino, el extracto de la cáscara obtenido, lo almacenaron en oscuridad a 4 °C hasta su uso, y la concentración de su macerado fue al 20% (p/v). A diferencia de nuestro trabajo, donde se obtuvo el extracto a partir de las muestras trituradas manualmente; además, el extracto fue almacenado a temperaturas de 37 ± 2 °C hasta su uso con una concentración de maceración de 20% (p/v), a pesar de estas diferencias mostró una alta actividad antioxidante.

Sulbarán *et al* ⁷ trabajaron con el pseudofruto de *A. occidentale* L., prepararon un homogeneizado con metanol, dejándolo reposar durante 24 horas a 4 °C. Luego, centrifugaron el preparado en ausencia de luz, no mencionaron la concentración de su macerado ni el rendimiento que obtuvieron.

En la marcha fitoquímica de nuestro extracto, se detectó la presencia de flavonoides, antraquinonas y compuestos fenólicos y saponinas, esto no concuerda con un trabajo realizado con las hojas de esta especie, extraídas con etanol al 70%, donde reportaron además la presencia de cumarinas, azúcares reductores, aminoácidos libres, triterpenos, esteroides, taninos¹³; en nuestro estudio con el extracto hidroalcohólico no hallamos esteroides, terpenoides ni taninos. En otra investigación identificaron un total de 14 constituyentes polifenólicos que fueron detectados en el pseudofruto de marañón por HPLC: ácido gálico, epigallocatequina, galato de epigallocatequina, miricetina y quercetina⁷⁴, que podrían encontrarse en el fruto de *A. occidentale* L aparte de sus constituyentes principales como los ácidos anarcárdicos, cardol y cardanol⁷².

Para la determinación de la actividad antioxidante, además del uso del Trolox ® también se puede comparar con otros estándares como el ácido salicílico, ácido cafeico y tyrosol⁵⁰.

Con respecto a la actividad antioxidante sobre *A. occidentale* L, en el trabajo de Sulbarán *et al*¹⁷ emplearon el método de ABTS^{•+}, cuya capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) fue de 0,0031 µg de trolox. µg⁻¹ de extracto, con la pulpa del pseudofruto de *A. occidentale* L, parte muy comestible de la planta, donde realizaron una extracción metanólica. Estos resultados difieren con nuestro valor de capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC), el cual fue de 0,451 µg de trolox. µg⁻¹ de extracto de la cáscara del fruto, valor cercano a la equivalencia con el trolox en comparación con el estudio anterior. La diferencia probablemente sea ocasionada por el estado de madurez y características climáticas de la zona de cultivo, en el trabajo de Sulbarán *et al*, usaron la pulpa del pseudofruto y su especie fue cultivada en Venezuela, a diferencia de nosotros que usamos la cáscara del fruto de una planta silvestre.

Vasudeva *et al*⁷³ realizó también un estudio sobre el potencial antioxidante del extracto de cáscara empleando el método ABTS^{•+}, encontrando un IC₅₀ de 1,30 ± 0,02 µg/mL, este resultado difiere con el nuestro, el cual fue de 5,83 µg/mL, esto

podría deberse al procesamiento de la muestra. En el estudio de Bolelli *et al*⁷¹ sobre la actividad antioxidante de los extractos acuosos y etanólicos del pseudofruto de *A.occidentale* L, en el ensayo de DPPH•, con su extracto etanólico obtuvieron una inhibición al 95 % con 0,5mg , mientras que nosotros lo obtuvimos con 37,6 µg, esto equivale a 0,0376 mg de extracto. Asimismo, con su extracto acuoso ellos obtuvieron una inhibición al 90 % con 0,5 mg, mientras que nosotros lo obtuvimos con 0,0356 mg de extracto hidroalcohólico. Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que el extracto hidroalcohólico de la cáscara del fruto posee mayor actividad antioxidante que los extractos etanólicos y acuosos del pseudofruto de *A. occidentale* L.

En el ensayo de DPPH• del extracto acuoso del jugo del pseudofruto de *A.occidentale* L. reportado por Valdez *et al*⁷², el 100 % de inhibición fue obtenido con 10 mg/mL de extracto. En comparación con nuestros resultados, solo necesitamos 39,64 µg/ml para inhibir el 100%, por lo tanto, la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de la cáscara de los frutos fue mayor al del extracto acuoso del jugo del pseudofruto. Este hallazgo ha sido demostrado en otros estudios⁷³. Es importante resaltar que los extractos preparados con distintas al fruto de *A. occidentale* L tienen una importante actividad antioxidante.

Con respecto a la cuantificación de compuestos polifenólicos, Valdez *et al*⁷², realizó con el pseudofruto de *A. occidentale* L. dos tipos de extracciones: acuoso y etanólico, obteniendo para el extracto acuoso 10,4 mg equivalente de ácido gálico / g de extracto seco, mientras que para el extracto etanólico 0,3 mg de ácido gálico / g de extracto seco. En comparación con nuestro resultado, extracto seco de la cáscara del fruto, obtuvimos $6,369 \pm 0,272$ mg equivalente a ácido gálico/ g de extracto seco. Por consiguiente, encontramos que la cantidad de polifenoles presentes en nuestro extracto de la cáscara del fruto fue mayor que el extracto etanólico pero menor al acuoso reportados por Valdez *et al*⁷².

En el trabajo de Vasudeva⁷³, donde también usaron la cáscara del fruto de *A.occidentale* L. describieron una concentración de 243 mg equivalentes a ácido

gálico/ g muestra seca, éste resultado difiere con los nuestros, ya que nosotros obtuvimos $3,974 \pm 0,17$ mg equivalentes a ácido gálico/g muestra seca, esto podría deberse a que en nuestro trabajo no se redujo el tamaño de partícula hasta polvo fino, por lo tanto, la extracción de metabolitos pudo ser parcial. Además, nuestro extracto fue conservado en estufa a 37 ± 2 °C hasta su uso, mientras que Vasudeva⁷³ lo almacenó a 4 °C.

Hay reportes de que se puede tratar el extracto de la cáscara de *A. occidentale* L., a temperaturas elevadas para obtener compuestos polifenólicos como los ácidos anacárdicos, que constituyen el 90 %. En este reporte refieren que aislaron ácidos anacárdicos del líquido de la cáscara, calentando la cáscara a 50 °C con agitación continua durante 3 h, luego el precipitado formado fue nuevamente calentado a 45 - 50 °C durante 2 h⁷⁵. Este ensayo sugiere la posible presencia de ácidos anacárdicos en nuestra muestra por lo cual el IC₅₀ fue bajo a pesar de que se obtuvieron poca cantidad de compuestos polifenólicos. Además, los estudios de los compuestos polifenólicos de la cáscara de los frutos de *A. occidentale* L. son escasos.

La obtención de nuestro extracto de *Muehlenbeckia volcanica* fue por el método de maceración hidroalcohólica, con agitación constante a temperatura ambiente y llevando a sequedad en estufa. Sin embargo, otros autores describen el uso de éter de petróleo, acetato de etilo y metanol, repitiendo tres veces la extracción y secando bajo presión con un evaporador rotativo⁷⁶. Además, en este estudio trabajaron de 20 g de polvo seco de la planta y llegaron a obtener un rendimiento mayor con éter de petróleo (0,2 %) pero no mencionaron la concentración de su macerados. En cambio, nuestro extracto de *M. volcanica* tuvo un rendimiento de 7,9 %.

En el estudio fitoquímico de nuestro extracto hidroalcohólico de la planta entera encontramos flavonoides, fenoles y taninos. Sin embargo, otros autores aislaron partes de la planta como las hojas, tallos y raíces. En este aspecto, Mellado *et al*⁷⁷ reportó que en *M. hastulata* había mayor cantidad de fenoles en la raíz,

antraquinonas en el tallo y flavonoides en las hojas. Además, es importante señalar su tipo de extracción ya que lo realizaron a temperatura ambiente igual que en nuestra muestra, pero usaron n-hexano, diclorometano y etanol, eliminando los solventes al vacío. Los extractos etanólicos de las hojas, tallos y raíces fueron de 72,46; 35,14 y 14,88 g, pero no mencionaron el rendimiento de sus muestras ni tampoco la concentración de sus macerados.

En un estudio de los frutos de *M. volcanica* (Benth.), sus extracciones fueron de tipo antociánicos y al usar el método de DPPH•, obtuvieron un IC₅₀ de 2,225 µg/mL, donde usaron como patrón al ácido ascórbico, cuyo IC₅₀ fue de 1,6334 µg/mL. Éste es uno de los estudios donde compararon la capacidad antioxidante no sólo con Trolox® si no también con otro estándar; bajo el mismo ensayo. Al comparar nuestros resultados, en nuestro extracto hidroalcohólico de la planta entera de *M. volcanica*, obtuvimos un valor de IC₅₀ de 17,55 µg/mL y de nuestro patrón Trolox® de 1,76 µg/mL, los resultados de los patrones fueron similares lo que nos explicaría la obtención de un TEAC muy cercano numéricamente entre ambos trabajos²¹.

Asimismo, Teves *et al*²¹ obtuvo un IC₅₀ de 4,077 µg/mL de su extracto del fruto para el ensayo de ABTS•⁺, comparándolo con nuestros resultados, obtuvimos un mayor valor de IC₅₀ de 5,43 µg/mL para nuestro extracto de la planta entera, lo cual indica que el trabajo de Teves²¹ en el fruto posee mayor actividad antioxidante en ABTS•⁺.

Considerando el potencial antioxidante en base al IC₅₀ de especies vegetales, aquellos valores menores a 30 µg/mL se caracterizan con alto potencial antioxidante, con moderado potencial los valores ubicados entre 30 µg/mL y 100 µg/mL y de bajo potencial antioxidante aquellos con un IC₅₀ por encima de 100 µg/mL. Por medio de este criterio podemos definir que los resultados de nuestro estudio sobre *M. volcanica*, tanto en los ensayos DPPH• y ABTS•⁺, tienen un alto potencial antioxidante, debido a que los valores de IC₅₀ son menores a 30 µg/mL⁷⁸. Sin basarnos en el criterio mencionado, existe diferencias entre los

resultados, esto podría deberse primero, al diferente contenido de antioxidantes en los órganos de la planta, nuestro estudio usó la planta entera y la otra, la fruta. Segundo, las zonas diferentes de recolección, ya que la composición química del suelo puede afectar al desarrollo y, por tanto, a la composición química de las plantas ⁷⁹, nuestra planta de estudio fue recolectada en Ancash, mientras que la planta comparada fue recolectada en Cuzco. Por último, por el tipo de extracción, ya que en ese estudio, realizaron una extracción antocianica, en cambio, en nuestra extracción hidroalcohólica podemos encontrar muchos metabolitos como flavonoides, fenoles y taninos (tabla 1).

Mellado *et al*⁸⁰ aisló cuatro tipos de antraquinonas del extracto de acetato de etilo de las hojas de *M. hastulata*, con el fin de ser medidas por el ensayo de DPPH•, los cuatro derivados antraquinónicos arrojaron valores mayores de IC₅₀ con respecto a nuestro extracto hidroalcohólico, teniendo los siguientes resultados de IC₅₀: 112,32 ; 56,05; 75,65; 104,62 mg / mL, para sus compuestos aislados; mientras que en nuestro extracto hidroalcohólico se obtuvo un IC₅₀ de 17,55 µg/mL que equivale a 0,01755 mg/mL, donde se muestra un resultado mucho más bajo, evidenciando que nuestro extracto presenta un alto potencial antioxidante con respecto a los 4 compuestos aislados de *M. hastulata*. Estas diferencias pudieron deberse al tipo de extracción empleada, como lo sugiere Mellado *et al* en su estudio, éste trabajo además obtuvo una concentración de su macerado de acetato de etilo de 25 %(p/v) y un rendimiento de 11,2 %, mientras que los resultados para nuestro estudio fueron de 19,2%(p/v) en concentración en macerado hidroalcohólico y rendimiento de 7,9%. Las antraquinonas poseen actividad antioxidante pero no se confirmaron su presencia con la marcha

En el ensayo de DPPH• de Siriwatanametanon *et al*⁷⁶ sobre las hojas de *M. platyclada*, trabajó con tres tipos de extractos cuyos solventes fueron éter de petróleo, acetato de etilo y metanol, obteniéndose como resultados de IC₅₀: 37,74; 2,45 y 14,42 µg/mL respectivamente, comparándolo con nuestro extracto cuyo IC₅₀ es 17,55 µg/mL, podemos decir que existe una aproximación numérica entre nuestro macerado hidroalcohólico y el extracto metanólico de *M. platyclada*,

debido a los IC₅₀; sin embargo, nuestro extracto tiene mayor poder antioxidante frente al extracto de éter de petróleo del estudio mencionado y menor poder antioxidante que el macerado de acetato de etilo.

Mellado *et al.*⁷⁷ describió que los extractos metanólicos de las hojas, tallos y raíces presentaron mayor actividad antioxidante que los extractos preparados con n-hexano, diclorometano y acetato de etilo en el ensayo de DPPH•, los resultados de IC₅₀ fueron: 2,19; 0,60 y 0,75 mg/mL para hojas, tallos y raíces respectivamente. Nuestro extracto cuyo IC₅₀ fue 17,55 µg/mL que equivale a 0,01755 mg/mL, tuvo mayor actividad antioxidante. Estos resultados podrían deberse a la diferente composición de metabolitos secundarios de cada parte de la planta estudiada, ya que en nuestro extracto usamos la planta entera.

Además, los extractos tienen una mezcla compleja de compuestos con actividad antioxidante potencial (fenoles, flavonoides, antraquinonas, etc.), que pueden tener un efecto sinérgico, aumentando la actividad del extracto.

Con respecto a los compuestos polifenólicos, éstos también se pueden cuantificar con ácido cafeico.⁷⁴ Sobre la cuantificación de compuestos polifenólicos sobre *M.hastulata*, luego de trabajar con diversos solventes, Mellado *et al*⁷⁷ reportó una gran cantidad de compuestos polifenólicos en su extracto etanólico, cuyos resultados fueron: 0,014; 0,020 y 0,022 mg equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto seco, para las hojas, tallos y raíces respectivamente, esto difiere con nuestro resultado en *M. volcanica* que presentó 53,306 ± 0,574 mg equivalentes a ácido gálico por gramo de extracto seco.

Gamochaeta purpurea también conocido como *Gnaphalium purpureum* L., en algunos casos se encuentra reportada con éste último nombre⁸¹. A pesar de ello se encuentran escasas referencias bibliográficas, en relación a la búsqueda de actividad antioxidante y el contenido de compuestos polifenólicos de ésta especie: sin embargo, para otras especies de su familia si existen estudios, entre los metabolitos secundarios de esta familia Asteraceae, dentro del género

Gamochaeta, podemos encontrar flavonas que tienen propiedades anticancerígenas ⁸².

Para otra especie de la misma familia como *Spilanthes acmella* Murr., se trabajó con 1,050 g de ésta (planta entera) y se trituró, luego se extrajo con n-hexano (no mencionan la cantidad de volumen en mililitros que usaron para la extracción) por 5 días, seguido de filtración, después se evaporaron a vacío para dar un extracto seco de n- hexano (11 g) cuyo rendimiento fue de 1%, del mismo modo, trabajaron con cloroformo, acetato de etilo y metanol para obtener extractos secos de: 10, 18 y 31 g, respectivamente ²⁵, éstos datos difieren con nuestros resultados porque nosotros obtuvimos un rendimiento mayor de 9 %.

Para *Gnaphalium affine*, perteneciente a la familia Asteraceae, se trabajó con muestra seca en polvo (100 g) y se añadió metanol (2000 ml, 50 %, v/v) con agitación continua a 25 °C durante 24 h. Luego, la mezcla se filtró y se condensó usando un evaporador rotativo. El extracto seco se obtuvo por liofilización con un rendimiento del 8,5 % y se almacenó a 4 °C. La forma de obtención del extracto de *Gnaphalium affine*, es diferente al de nosotros, porque no usamos evaporador rotativo, tampoco metanol y además no almacenamos la muestra a 4 °C. A pesar de todo ello, con nuestro extracto hidroalcohólico de *Gamochaeta purpurea* obtuvimos un rendimiento de 9 %, mayor al que trabajaron con *Gnaphalium affine*. Además, la preparación del extracto de *Gnaphalium affine* fue al 5 % (p/v), mientras que nosotros fue de 11,25 % (p/v) ²⁶.

Se trabajó también con *Bidens pilosa*, una especie que pertenece a la misma familia que *Gamochaeta purpurea*, en *Bidens pilosa* se trabajó con el aceite esencial de sus hojas, las cuales fueron secadas a sombra y luego cortadas en pedazos, obtuvieron un 1 kg de éstas para luego ser llevadas a hidrodestilación durante 4 h, para luego ser usadas en el ensayo de DPPH• en metanol ²⁷.

En *Calendula arvensis*, se empleó un método de extracción diferente al nuestro. Los autores describen que prepararon un extracto acuoso 40 % (p/v) a partir de las flores en polvo durante 30 minutos, la infusión se filtró y liofilizó. Además, prepararon extractos hexanólicos y metanólicos 40 % (p/v) empleando flores en polvo y soxhlet por 6 horas. Luego los filtrados se evaporaron a vacío hasta

sequedad usando evaporador rotativo y los almacenaron a 4 °C. En este estudio trabajaron con concentraciones de extractos al 40% (p/v), las cuales estuvieron más concentrados que en nuestro estudio 11,25 %(p/v). Sin embargo, en el trabajo de *Caléndula arvensis* no se menciona el rendimiento de sus extractos para poder compararlo con nuestro estudio ⁸³.

En la especie *Acanthospermum hispidum*, también usaron la planta entera y guarda una similitud con la obtención de nuestro extracto, ya que usaron la planta entera, lo secaron a temperatura ambiente, fuera del sol, y luego lo convirtieron en polvo, éste fue macerado con etanol absoluto en una proporción de 1:5 (masa / volumen) durante 24 h con agitación mecánica. El macerado fue filtrado, concentrado y congelado a - 20 °C. Posteriormente, fue liofilizado para investigaciones posteriores. El extracto etanólico de *A. hispidum* fue preparado al 20 % (p/v), mientras que nosotros lo preparamos al 11,25 % (p/v). Los autores describen que su extracto acuoso lo prepararon al 20 % (p/v), lo hirvieron bajo reflujo durante 30 minutos, después concentraron el sobrenadante, lo congelaron y liofilizaron ⁸⁴.

Especies del género *Gamochaeta*, presentan ácidos fenólicos como el ácido vanílico, que poseen propiedades antioxidantes ⁵⁵. En nuestro análisis fitoquímico del extracto hidroalcohólico de *Gamochaeta purpurea*, también se evidenció la presencia de flavonoides, fenoles y taninos, las cuales pueden estar involucrados en su actividad antioxidante. Otros autores han reportado la presencia de triterpenos, ácido cafeico, derivados del ácido catequínico, compuestos fenólicos (curcumina), cumarina (4-hidroxycumarinas 3-sustituidas) y alcaloides, éste último metabolito secundario no se evidenció en el análisis fitoquímico de *G. purpurea*. Además, en dicho estudio mencionan que éstos compuestos podrían ser responsables de inhibir diferentes etapas en el ciclo de replicación del VIH y que estarían en el extracto tanto lipofílico como hidrofílico usando la planta entera de éste género, tal es el caso de *G. simplicanlis* ⁵⁶.

Sobre la base del criterio mencionado donde consideran el potencial antioxidante en base al IC₅₀ para especies vegetales, aquellos valores menores a 30 µg/mL se caracterizan por tener alto potencial, con moderado entre 30 µg/mL y 100 µg/mL y

de bajo aquellos por encima de 100 $\mu\text{g/mL}$ ⁷⁸, a través de este criterio podemos decir que *G. purpurea* presentó valores IC_{50} de 4,11 y 9,55 $\mu\text{g/mL}$, para DPPH• y ABTS•⁺, respectivamente, la cual nos muestra que posee alto potencial antioxidante, ya que son valores menores de 30 $\mu\text{g/mL}$.

En el estudio de otra especie de esta numerosa familia, encontramos a *Spilanthes acmella* Murr, donde por medio del ensayo de DPPH•, de todos sus extractos probados en n-hexano, cloroformo, acetato de etilo y metanol, mostraron la mayor actividad antioxidante sólo los extractos de acetato de etilo y metanólico y que además fueron comparables entre sí con IC_{50} de 216 y 223 $\mu\text{g / mL}$, respectivamente, mientras que nuestro resultado en *G.purpurea* en extracto hidroalcohólico presentó un IC_{50} de 4,11 $\mu\text{g / mL}$ por medio del mismo método mostró mayor actividad antioxidante con respecto a *Spilanthes acmella* Murr, siendo especies de la misma familia ²⁵.

Se estimó la actividad antioxidante por DPPH• del aceite esencial de *Bidens pilosa* en metanol, presentando un IC_{50} de 2,77 $\mu\text{g / mL}$, lo cual difiere con nuestro resultado ya que nosotros obtuvimos 4,11 $\mu\text{g / mL}$ ²⁷.

Con respecto a la actividad antioxidante DPPH• de los extractos acuoso y metanólico de *Calendula arvensis*, los autores reportaron valores de IC_{50} de $33,2 \pm 2,12$ y $20,9 \pm 5,34$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, estos resultados muestran que en nuestro estudio se logró obtener una mayor actividad antioxidante con el extracto hidroalcohólico de *G. purpurea* con un IC_{50} de 4,11 $\mu\text{g / mL}$ ⁸³.

En relación a *Acanthospermum hispidum*, sus extractos etanólicos y acuosos han demostrado tener gran poder antioxidante, donde obtuvieron resultados de IC_{50} de $0,08 \pm 0,0018$ y $0,6 \pm 0,0012$ $\mu\text{g/mL}$, respectivamente, mucho más bajos que nuestro IC_{50} (4,11 $\mu\text{g / mL}$), esto demuestra que a pesar del uso de solventes polares, como el etanol, se puede obtener resultados de IC_{50} muy bajos ⁸⁴.

Con respecto a los compuestos polifenólicos, en la especie de *Gnaphalium affine*, encontró $154,36 \pm 1,61$ mg equivalentes a ácido gálico /g extracto seco, éstos resultados difieren con los nuestros, porque nosotros obtuvimos $68,916 \pm 2,63$ mg equivalentes a ácido gálico /g extracto seco ²⁶.

En los extractos acuoso y metanólico de las flores de *Calendula arvensis*, se obtuvo una cantidad de compuestos polifenólicos de $47,89 \pm 2,34$ y $50,26 \pm 0,18$ mg equivalentes a ácido gálico/g extracto seco; sin embargo, en nuestro estudio sobre *Gamochaeta purpurea* encontramos $68,916 \pm 2,93$ mg equivalentes de ácido gálico/g de extracto seco ⁸³.

Para *Acanthospermum hispidum* sus extractos etanólico y acuoso presentaron gran contenido de compuestos polifenólicos, las cuales fueron de $335,8 \pm 6,3$ y $312,4 \pm 5,6$ mg equivalentes a ácido gálico/g extracto seco respectivamente ⁸⁴. Estos valores fueron mayores a nuestro resultado en *Gamochaeta purpurea* de $68,916 \pm 2,93$ mg equivalentes a ácido gálico /g extracto seco.

VI. CONCLUSIONES

- Se realizó el análisis fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale*, *Muehlenbeckia volcanica*, *Gamochaeta purpurea* encontrando flavonoides, taninos y saponinas.
- Los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera presentaron un contenido de compuestos polifenólicos de 6,369; 53,306 y 68,916 expresados en mg de ácido gálico por gramo de extracto seco, y una desviación estándar de 0,27; 0,57 y 2,93 respectivamente.
- Sobre la actividad antioxidante, *in vitro*, por el método de DPPH•, los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera presentaron un IC₅₀ de 19,29; 17, 55 y 4,11 µg/ml respectivamente. Mientras que sobre la actividad antioxidante, *in vitro*, por el método de ABTS•⁺ los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera presentaron un IC₅₀ de 5,83; 5,43 y 5,26 µg/ml, respectivamente.
- Los extractos hidroalcohólicos de *Anacardium occidentale* L, *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. y *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera presentaron como valor de TEAC: 0,091; 0,1 y 0,428 µg Trolox /µg y 0,45; 0,48 y 0,5 µg Trolox /µg por los métodos de DPPH• y ABTS•⁺, respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

- Determinar la actividad antioxidante y compuestos polifenólicos de la pulpa del fruto de *Anacardium occidentale* L. comparar con la cáscara del fruto realizado.
- Identificar los tipos de flavonoides de *Gamochaeta purpurea*, que podrían tener responsabilidad en la actividad antioxidante y posiblemente en la actividad antitumoral según literatura encontrada acerca de su familia.
- Realizar la actividad citotóxica de las 3 especies vegetales para hallar el DL50 en extractos acuosos.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zamora J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud, Rev Chil Nutr . 2007; 34(1):1-8.
2. Evans, W. Vitamin E, vitamin C and exercise. Am J Clin Nutr. 2000; 72: 647-652.
3. Córdova A, Álvarez M. Inmunidad en el Deporte. Edi 1ra. Madrid: Gymnos 2000.
4. Clarkson P.Thompson H. Antioxidants: what role do they play in physical activity and health? Am J Clin Nutr. 2000;72 (2): 637-646.
5. Hernández, F. Nutrientes esenciales en la práctica deportiva. Cuadernos Psic Dep. 2004; 1(4): 215-221.
6. Morillas R, Delgado A. Análisis nutricional de alimentos vegetales con diferentes orígenes: Evaluación de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos totales. Nutr. clín. diet. hosp. 2012; 32(2):8-20.
7. Speisky H, Jiménez I. Radicales libres y antioxidantes en la prevención de enfermedades: mecanismos de generación de radicales libres. Rev Chil. 2000; 27(1): 217.
8. Pineda D, Salucci M, Lazaro R, Maiani G, Ferro-Luzzi A. Capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos. Rev Cub Aliment nutr .1999; 13(2): 104-11.
9. Harborne, J.B. The flavonoids. Advances in research since 1986. Editorial Chapman and Hall.Londres; 1993 .

10. Miliauskas, G.; Venskutonis, P.R., Van Beek,T.A. Screening of radical scavenging activity of some medicinal and aromatic plant extracts.Food Chemistry. 2004; 85(1): 231-237.
11. Rodriguez I. Valdés Y. Proveyer S. Citostáticos: medicamentos riesgosos. Rev cubana med. [revista en la Internet]. 2004; 43: 2-3.
12. Bolelli P, Silva de Andrade-Wartha E, De Oliveira A. Evaluación de la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos en los subproductos de la marañón (*Anacardium occidentale* L.) . Rev. Ciencia Tecn Alim. 2007; 27(4): 902-908.
13. Martínez Y, Soto F, Almeida M. Hermosilla R, Martinez O. Metabolitos secundarios y actividad antibacteriana in vitro de extractos de hojas de *Anacardium occidentale* L. (marañón). Rev. Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17(4): 320-329.
14. Fagundes LL, Vieira G, De Jesus J, De Pinho G, Hitomi C, Alves S,et al. Pharmacological Proprieties of the Ethanol Extract of Muehlenbeckia platyclada (F. Muell.) Meisn. Leaves. Int. J. Mol. Sci. 2010; 11(10): 3942-3953.
15. Páez R. La investigación de la industria farmacéutica: ¿condicionada por los intereses del mercado? Acta Bioethica. 2011; 17 (2): 237-246.
16. Suzimone J, Correia JP, Jorge M. Metabolitos secundarios de especies Anacardiacea. Química Nova. 2006 ;29(6): 1287- 1300.
17. Sulbarán B, González B, Fernández V. Caracterización química y actividad antioxidante del pseudofruto de cauñil (*Anacardium occidentale* L.) Rev. Fac. Agron. 2013; 30: 455-470.

18. Da Silva R, Amado S, Do Amaral F. Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Anacardium occidentale* L. Flowers in Comparison to Bark and Leaves Extracts. *Journal of Biosciences and Medicines*. 2016; 4: 87-99.
19. Pamo Reyna O. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. *Rev. Perú. med. exp. salud pública*. 2009; 26 (3): 314- 323.
20. Rodriguez O, Torrenegra R, Beltran S, Matulevich J, Castrillon W. Metabolitos de baja polaridad en hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. *Journal of Technology*. 2014; 13: 95-108.
21. Teves F, Torres R. Estudio comparativo de la actividad antioxidante in vitro de los extractos antociánicos y caracterización de las antocianidinas en los frutos de las especies vegetales "*Prunus serotina* (Capuli), *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. (Mullak'a), *Monnina salicifolia* R. & P: (Aceitunilla)" [tesis para optar el título profesional de Químico Farmacéutico]. Cuzco. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.2011.
22. Huamán L, Ventura K, Amaro L, Rimayhuamán J , Gómez A , Castillo H. Angiospermas del herbario magdalena pavlich de la Universidad Peruana Cayetano Heredia- HUPCH, Lima. *The Biologist* (Lima). 2011; 9 (2):129 -159.
23. Kahn F, Millán B, Cano A, La Torre MI, Baldeón S, Beltrán H. Contribución a la flora altoandina del distrito de Oyón, región Lima, Perú. *Rev. Peruana de Biología*. 2016; 23(1): 067 – 072.
24. Katinas L, Gutiérrez D, Grossi M , Crisci J. Panorama de la familia Asteraceae (=Compositae) en la República Argentina. *Bol. Soc. Argent*. 2007; 42 (1-2): 113- 129.

- 25 . Wongsawatkul O, Prachayasittikul S, Isarankura-Na-Ayudhya C, Satayavivad J , Ruchirawat S , Prachayasittikul V. Vasorelaxant and Antioxidant Activities of *Spilanthes acmella* Murr. Int. J. Mol. Sci. 2008; 9: 2724-2744.

26. Zeng WC, Zhang WC, Zhang WH, He Q, Shi B. The antioxidant activity and active component of *Gnaphalium affine* extract. Food and Chemical Toxicology. 2013; 58: 311–317.

27. Goudoum A, Abdou A, Ngassoum L, Mbofung C. Antioxidant activities of essential oil of *Bidens pilosa* (Linn. Var. *Radita*) used for the preservation of food qualities in North Cameroon. Food Science & Nutrition. 2016;1 :1-6.

- 28 Rico, R.; Bulló, M.; Salas-Salvadó, J. Nutritional composition of raw fresh cashew (*Anacardium occidentale* L.) kernels from different origin. Food Sci. Nutr. 2016;4: 329–338.

29. Obembe O, Ige A. Sperm parameters of male Wistar rats treated with *Anacardium occidentale* L. leaf extract. Res. J. of Health Sci. 2016; 4(1): 83-89.

30. Kannan VR, Sumathi CS, Balasubramanian V, and Ramesh N. Elementary chemical profiling and antifungal properties of Cashew (*Anacardium occidentale* L.) Nuts. Botany Research International. 2009; 2(4): 253-257.

- 31 . Dahake A, Joshi V. Joshi A. Antimicrobial careening of different extract of *Anacardium occidentale* Linn. Leaves. International Journal of ChemTech Research. 2009; 1(4): 856-858.

32. Flores M, Alegría J. Granda A. Diversidad florística asociada a las lagunas andinas Pomacocha y Habascocha, Junín, Perú. Rev. Perú. Biol. 2005; 12(1): 125-134.

33. Brako, L. J. Zarucchi. Catalogue of the Flowering Plants and Gymnosperms of Perú. Monographs in Systematic Botany of the Missouri Botanical Garden. 1993; 45: 414-425.
34. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Rev. Perú biol. 2011; 18(3): 283-291.
35. Servat G, Mendoza W, Ochoa J. Flora y fauna de cuatro bosques de polylepis (rosaceae) en la cordillera del vilcanota (cusco, Perú). Ecología Aplicada. 2002; 1(1): 25-35.
36. De la Cruz Silva H, Zevallos P, Vilcapoma G. "Status" de conservación de las especies vegetales silvestres de uso tradicional en la provincia de Canta, Lima-Perú. Ecología Aplicada. 2005; 4(1,2): 9 – 16.
37. Montesinos-Tubée D; Pinto A ; Beltrán D; Galiano W. Vegetación de un bosque de *Polylepis incarum*(Rosaceae) en el distrito de Lampa, Puno, Perú. Rev. Perú biol. 2015; 22 (1): 87-96.
38. Sanchez I. Biodiversidad vegetal de los andes (2) .En: Seminario J. Raíces Andinas: Contribuciones al conocimiento y a la capacitación: Conservación y uso de la biodiversidad de raíces y tubérculos andinos: Una década de investigación para el desarrollo (1993-2003). 6ta edición. Lima: Universidad Nacional de Cajamarca, Centro Internacional de la Papa, Agencia Suiza para el Desarrollo y la Cooperación; 2004. p.39-48.
39. Parra F. Torres J .Ceroni A. Composición florística y vegetación de una microcuenca andina: el pachachaca (Huancavelica). Ecología Aplicada. 2004; 3(1): 9-16.
40. Pavlow I. Roersch C. Plantas Medicinales en el Sur Andino del Perú. Tomo 1 y 11. Koeltz Scientific Books. Centro de Medicina Andina; 1994.

41. Mantilla J, Olazabal O. Las Plantas Medicinales de Nuestra Madre Tierra. 2a ed. Instituto de Ecología y Plantas Medicinales “Pachamama Hampi Qhoranchiskuna” Cuzco. 2008.
42. Tello G. “Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de quero, jauja, región Junín”. [Tesis para optar el título profesional de biólogo]. Lima. Universidad Nacional Agraria La molina. 2015.
43. Freire S, Salomón L , Bayón N , Baeza C, Muñoz M, Migoya M. Taxonomic revision of the genus *Gamochaeta* Wedd. (*Gnaphalieae*, *Asteraceae*) in Chile. *Gayana Bot.* 2016; 73(2): 292-345.
44. Alford M. New records of *Gamochaeta* (Asteraceae) in the Hawaiian Archipelago. *Records of the Hawaii Biological Survey.* 2012; 113: 1–6.
45. Beltrán H, Granda A, León B, Sagástegui A, Sánchez I, Zapata M. Asteraceae endémicas del Perú. *Rev. Perú biol.* 2006; 13 (2): 64- 925.
46. Lun I. Germinable soil seed banks of anthropogenic native grasslands and grassy forest remnants in temperate south-eastern Australia. *Plant Ecology.* 1997; 130: 21–34.
47. Soldano A. Dati su specie esotiche della flora italiana nuove o rare. «Natura Bresciana» *Ann. Mus. Civ. Se. N aL Brescia.* 2000; 32: 69-75.
48. Lima J.R, Garruti D.S, Bruno L.M. Physicochemical, microbiological and sensory characteristics of cashew nut butter made from different kernel grades-quality. *LWT Food Sci. Technol.* 2012; 45: 180–185.
49. Yang, J.; Liu, R.H.; Halim, L. Antioxidant and antiproliferative activities of common edible nut seeds. *LWT Food Sci. Technol.* 2009; 42: 1–8.

50. Trevisan, M. T, Pfundstein, B, Haubner R, Wurtele G, Spiegelhalder B, Bartsch H, et al. Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium occidentale*) products and assay of their antioxidant capacity. Food and Chemical Toxicology. 2006; 44: 188–197.
51. Liu C, Peng Q, Zhong J, Liu W, Zhong Y , Wang F. Molecular and Functional Properties of Protein Fractions and Isolate from Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.). Molecules 2018. 2018; 23(2): 1-15.
52. Agapito F, Sung I .Fitomedicina: 1100 Plantas Medicinales. Lima: Editorial Isabel; 2005.
53. Lock O. Investigación Fitoquímica .Métodos en el Estudio en los Productos Naturales. Lima: Pontificia Universidad Católica del Perú; 2004.
54. Rodriguez O, Torrenegra R, Beltran S, Matulevich J, Castrillon W. Metabolitos de baja polaridad en hojas de *Muehlenbeckia tamnifolia* (Kunth) Meisn. Journal of Technology. 2014; 13: 95-108.
55. Ahmad N, Siddiqui M. A study of simple phenolics in *Gnaphalium* linn. spp. Neo Botanica. 2000; 8 (1): 7-10 .
56. Patil U, Dixit K. Medicinal plants as a source of therapeutic agents against HIV infection. Journal of natural remedies. 2002; 2: 132-142.
57. Finkel T, Holbrook N. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. Nature 2000; 408: 239-247.
58. Maldonado O, Jiménez E, Bernabé M , Ceballos G, Méndez E. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV. 2010; 1: 32- 39.

59. Céspedes T, Sánchez D. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev Cub Cardiol*. 2000; 14(1): 55-60.
60. Linda C. Hemphill I, Cobiac L, Sullivan D, Fenech M. Gourment Garden: Herbs and spices. Health benefits of herbs and spices: the past, the present, the future. *The Medical Journal of Australia*. 2006; 185 (4): 4-22.
61. Arranz S. Compuestos polifenólicos (extraíbles y no extraíbles) en alimentos de la dieta española: metodología para su determinación e identificación. [Tesis para optar el grado de doctor en nutrición]. Madrid. Universidad Complutense de Madrid. 2010.
62. Mercado-Mercado G, De la Rosa L, Wall-Medrano A, José López A, Álvarez E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutr. Hosp*. 2013; 28(1): 36- 46.
63. Kuklinski, C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega. Barcelona. 2003.
64. Yilmaz Y, Toledo, RT. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2006; 19: 41-48.
65. Folin C. Ciocalteau V. Tyrosine and tryptophan determination in proteins. *J. Biol. Chem*. 1927; 73: 627- 650.
66. ISO 14502-1 "Determination of total polyphenols in tea- Colorimetric method using Folin-Ciocalteau reagent. Part 1 ". Geneva 20 . Ginebra 2004.
67. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 1995; 28: 25-30.

68. Re R, Pellegrini N, Preteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radicals in Biology and Medicine*. 1999; 26 (9/10): 121-37.
69. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Garcia-Parilla M C, Fett, R. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos. *Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim*. 2004; 24(4): 641-643.
70. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Sci*. 2002; 7: 405-410.
71. Bolelli P, Silva de Andra E, De Oliveira A, Vidal A , Pavan R, Cordeiro H, Alves R, Mancini-Filho J. Avaliação da atividade antioxidante dos compostos fenólicos naturalmente presentes em subprodutos do pseudofruto de caju (*Anacardium occidentale* L.). *Ciência e Tecnologia de Alimento*. 2007; 27(4): 902-908.
72. Valdez L. Actividad antioxidante y antiinflamatoria de subproductos del fruto falso de marañón (*Anacardium occidentale* L) variedad roja. [Tesis para obtener el grado en ciencias alimentarias]. Veracruz. Universidad Veracruzana, Instituto de Ciencias Basicas. 2011.
73. Vasudeva K. Rajini P. The efficacy of cashew nut (*Anacardium occidentale* L.) skin extract as a free radical scavenger. *Food Chemistry*. 2007; 103(2): 428-433.
74. Gordon A, Friedrich M , Da Matta V, Herbster C , Marx F. Changes in phenolic composition, ascorbic acid and antioxidant capacity in cashew apple (*Anacardium occidentale* L.) during ripening fruits. 2012; 67 (4): 267–276.
75. Paramashivappa, R., Kumar, P. Vithayathil, P. Rao, A. Novel method for isolation of major phenolic constituents from anacardo (*Anacardium occidentale* L.) líquido de cáscara de nuez. *Diario de Agricultural and Food Chemistry*. 2001; 49: 2548-2551.

76. Siriwatanametana N, Fiebich B, Efferth T, Prieto J, Heinrich M. Traditionally used Thai medicinal plants: In vitro anti-inflammatory, anticancer and antioxidant activities. *Journal of Ethnopharmacology*. 2010; 130: 196–207.
77. Mellado M, Madrid A, Jara C, Espinoza L. Antioxidant effects of *Muehlenbeckia hastulata* J. (Polygonaceae) Extracts. *J. Chil. Chem. Soc.* 2012; 57 (3): 1301-1304.
78. Ramos A., Vizoso A, Piloto J, García A., Rodríguez C, Rivero R. Screening and antimutagenicity via antioxidant activity in Cuban medicinal plants. *Journal of ethnopharmacology*. 2003; 87: 241-246.
79. Villar del Fresno A. *Farmacognosia General*. Madrid. Editorial Síntesis; 1999.
80. Mellado M, Madrid A, Peña-Cortéz H, López R, Jara C, Espinoza L. Antioxidant activity of anthraquinones isolated from leaves of *Muehlenbeckia hastulata* (J.E. SM.) Johnston. (Polygonaceae). *J. Chil. Chem. Soc.* 2013; 58 (2): 1767-1770.
81. Nesom G, Pruski J. Proposal to conserve the name *Gnaphalium purpureum* (Compositae: Gnaphalieae) with a conserved type. *Taxon*: 2005; 54 (4): 1103-1104.
82. Thomas C, Wood R, Wyatt J, Pendleton M, Torrenegra R, Rodríguez O, et al. (2012) Anti-Neoplastic Activity of Two Flavone Isomers Derived from *Gnaphalium elegans* and *Achyrocline bogotensis*. *PLoS ONE* 7(6): e39806. <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0039806>.
83. Abudunia A, Marmouzi I, Faouzi M, Ramli Y, Taoufik J, El Madani N, et al. Anticandidal, antibacterial, cytotoxic and antioxidant activities of *Calendula arvensis* flowers. *Journal De Mycologie Médicale* .2016; 655: 1-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mycmed.2016.11.002>.

84. E. N'do J , Hilou A, Ouedraogo N, Sombie E , Traore T. Phytochemistry, Antioxidant, and Hepatoprotective Potential of *Acanthospermum hispidum* DC Extracts against Diethylnitrosamine-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Medicines* . 2018; 5(42):1 -13.

XI. ANEXOS

ANEXO 1



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la Consolidación del Mar de Grau"

CONSTANCIA N° 241-USM-2016

El JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fruto) recibida de **Arnaldo Joseph NAVARRO SOTO**, bachiller de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido estudiada y clasificada como: ***Anacardium occidentale* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: ROSIDAE

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: ANACARDIACEAE

GENERO: *Anacardium*

ESPECIE: *Anacardium occidentale* L.

Nombre vulgar: "pepa de marañón"
Determinado por: Blgo. Mario Benavente Palacios

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 31 de octubre de 2016



Mg. Asunción Cano Echevarría
JEFE (e) DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

Av. Arenales 1256, Jesús María
Apdo. 14-0434, Lima 14, Perú

Teléfono (511) 471-0117, 470-4471
265-6819, 619-7000 anexo 5703

e-mail: museohn@unmsm.edu.pe
<http://museohn.unmsm.edu.pe>

ANEXO 2

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 017512863 – Cel: 963689079
e-mail: joricampos@yahoo.es



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, CON DOMICILIO EN JR. SÁNCHEZ SILVA 156- 2do. Piso. URB. SANTA LUZMILA – LIMA 07, BIÓLOGO COLEGIADO N° 3796, HABILITADO POR EL CBP PARA EJERCER LA PROFESIÓN. INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

Certifica, que:

NAVARRO SOTO, ARNALDO JOSEPH, con Grado Académico de Bachiller, egresado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación, ha solicitado la identificación y certificación botánica de una planta proveniente del Departamento de Ancash. Provincia de Yungay. Distrito de Mancos, donde es conocida con el nombre vulgar de “mullaca”, la muestra ha sido determinada como *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. Y en Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist ocupa las siguientes categorías taxonómicas:

REINO : Plantae
DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
SUBCLASE : Caryophyllidae
ORDEN : Polygonales
FAMILIA : Polygonaceae
GENERO : *Muehlenbeckia*
ESPECIE : *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl.

Nombre vulgar: “mullaca”

Se expide la presente certificación para los fines que estime conveniente.

Lima, 25 de abril del 2017



José Ricardo Campos de La Cruz
José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jirón Sánchez Silva N° 156. Urbanización Santa Luzmila-Lima

ANEXO 3

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 017512863 – Cel: 963689079
e-mail: joricampos@yahoo.es



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ, CON DOMICILIO EN JR. SÁNCHEZ SILVA 156- 2do. Piso. URB. SANTA LUZMILA – LIMA 07. BIÓLOGO COLEGIADO N° 3796. HABILITADO POR EL CBP PARA EJERCER LA PROFESIÓN. INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

Certifica, que:


NAVARRO SOTO, ARNALDO JOSEPH, con Grado Académico de Bachiller, egresado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación, ha solicitado la identificación y certificación botánica de la planta proveniente del valle de la quebrada Huari Rurichinchay. Departamento de Ancash. Provincia de Huari. Distrito de Huari, donde es conocida con el nombre vulgar de “keto keto”, muestra que ha sido determinada como *Gamochaeta purpurea* (L.) Cabrera. Y el Sistema de Clasificación de Arthur Cronquist ocupa las siguientes categorías taxonómicas:

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Asteridae
ORDEN	: Asterales
FAMILIA	: Asteraceae
GENERO	: <i>Gamochaeta</i>
ESPECIE	: <i>Gamochaeta purpurea</i> (L.) Cabrera.

Nombres vulgares: “keto keto”, “lengua de perro”

Se expide la presente certificación para los fines que estime conveniente.

Lima, 25 de abril del 2017


José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jirón Sánchez Silva N° 156. Urbanización Santa Luzmila-Lima

ANEXO 4
(*Anacardium occidentale* L., Método DPPH•)

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,392	4	,098	3544,651	,000
Dentro de grupos	,000	10	,000		
Total	,393	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	3ug/ml	.052667*	.004295	,000	.03403	.07130
	13 ug/ml	.179667*	.004295	,000	.16103	.19830
	27ug/ml	.312667*	.004295	,000	.29403	.33130
	37ug/ml	.436667*	.004295	,000	.41803	.45530
3ug/ml	0 ug/ml	-.052667*	.004295	,000	-.07130	-.03403
	13 ug/ml	.127000*	.004295	,000	.10837	.14563
	27ug/ml	.260000*	.004295	,000	.24137	.27863
	37ug/ml	.384000*	.004295	,000	.36537	.40263
13 ug/ml	0 ug/ml	-.179667*	.004295	,000	-.19830	-.16103
	3ug/ml	-.127000*	.004295	,000	-.14563	-.10837
	27ug/ml	.133000*	.004295	,000	.11437	.15163
	37ug/ml	.257000*	.004295	,000	.23837	.27563
27ug/ml	0 ug/ml	-.312667*	.004295	,000	-.33130	-.29403
	3ug/ml	-.260000*	.004295	,000	-.27863	-.24137
	13 ug/ml	-.133000*	.004295	,000	-.15163	-.11437
	37ug/ml	.124000*	.004295	,000	.10537	.14263
37ug/ml	0 ug/ml	-.436667*	.004295	,000	-.45530	-.41803
	3ug/ml	-.384000*	.004295	,000	-.40263	-.36537
	13 ug/ml	-.257000*	.004295	,000	-.27563	-.23837
	27ug/ml	-.124000*	.004295	,000	-.14263	-.10537

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 5
(*Anacardium occidentale* L., Método ABTS^{•+})
ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,407	4	,102	312,693	,000
Dentro de grupos	,003	10	,000		
Total	,411	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	0.8 ug/ml	.0291000	.0147354	,342	-.034835	.093035
	1.6 ug/ml	.1085667*	.0147354	,000	.044632	.172502
	4 ug/ml	.2224333*	.0147354	,000	.158498	.286368
	8 ug/ml	.4542000*	.0147354	,000	.390265	.518135
0.8 ug/ml	0 ug/ml	-.0291000	.0147354	,342	-.093035	.034835
	1.6 ug/ml	.0794667*	.0147354	,002	.015532	.143402
	4 ug/ml	.1933333*	.0147354	,000	.129398	.257268
	8 ug/ml	.4251000*	.0147354	,000	.361165	.489035
1.6 ug/ml	0 ug/ml	-.1085667*	.0147354	,000	-.172502	-.044632
	0.8 ug/ml	-.0794667*	.0147354	,002	-.143402	-.015532
	4 ug/ml	.1138667*	.0147354	,000	.049932	.177802
	8 ug/ml	.3456333*	.0147354	,000	.281698	.409568
4 ug/ml	0 ug/ml	-.2224333*	.0147354	,000	-.286368	-.158498
	0.8 ug/ml	-.1933333*	.0147354	,000	-.257268	-.129398
	1.6 ug/ml	-.1138667*	.0147354	,000	-.177802	-.049932
	8 ug/ml	.2317667*	.0147354	,000	.167832	.295702
8 ug/ml	0 ug/ml	-.4542000*	.0147354	,000	-.518135	-.390265
	0.8 ug/ml	-.4251000*	.0147354	,000	-.489035	-.361165
	1.6 ug/ml	-.3456333*	.0147354	,000	-.409568	-.281698
	4 ug/ml	-.2317667*	.0147354	,000	-.295702	-.167832

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 6
(*Muehlenbeckia volcanica*, Método DPPH•)

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,309	4	,077	783,535	,000
Dentro de grupos	,001	10	,000		
Total	,310	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	13.33 ug/ml	.1820000*	.0081131	,000	.146798	.217202
	20 ug/ml	.2726667*	.0081131	,000	.237465	.307868
	26.67 ug/ml	.3420000*	.0081131	,000	.306798	.377202
	33.33 ug/ml	.4153333*	.0081131	,000	.380132	.450535
13.33 ug/ml	0 ug/ml	-.1820000*	.0081131	,000	-.217202	-.146798
	20 ug/ml	.0906667*	.0081131	,000	.055465	.125868
	26.67 ug/ml	.1600000*	.0081131	,000	.124798	.195202
	33.33 ug/ml	.2333333*	.0081131	,000	.198132	.268535
20 ug/ml	0 ug/ml	-.2726667*	.0081131	,000	-.307868	-.237465
	13.33 ug/ml	-.0906667*	.0081131	,000	-.125868	-.055465
	26.67 ug/ml	.0693333*	.0081131	,000	.034132	.104535
	33.33 ug/ml	.1426667*	.0081131	,000	.107465	.177868
26.67 ug/ml	0 ug/ml	-.3420000*	.0081131	,000	-.377202	-.306798
	13.33 ug/ml	-.1600000*	.0081131	,000	-.195202	-.124798
	20 ug/ml	-.0693333*	.0081131	,000	-.104535	-.034132
	33.33 ug/ml	.0733333*	.0081131	,000	.038132	.108535
33.33 ug/ml	0 ug/ml	-.4153333*	.0081131	,000	-.450535	-.380132
	13.33 ug/ml	-.2333333*	.0081131	,000	-.268535	-.198132
	20 ug/ml	-.1426667*	.0081131	,000	-.177868	-.107465
	26.67 ug/ml	-.0733333*	.0081131	,000	-.108535	-.038132

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 7
(*Muehlenbeckia volcánica*, Método ABTS^{•+})

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,416	4	,104	3397,716	,000
Dentro de grupos	,000	10	,000		
Total	,416	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	3 ug/ml	.080000*	.004517	,000	.06514	.09486
	6 ug/ml	.279000*	.004517	,000	.26414	.29386
	8 ug/ml	.361000*	.004517	,000	.34614	.37586
	11 ug/ml	.439000*	.004517	,000	.42414	.45386
3 ug/ml	0 ug/ml	-.080000*	.004517	,000	-.09486	-.06514
	6 ug/ml	.199000*	.004517	,000	.18414	.21386
	8 ug/ml	.281000*	.004517	,000	.26614	.29586
	11 ug/ml	.359000*	.004517	,000	.34414	.37386
6 ug/ml	0 ug/ml	-.279000*	.004517	,000	-.29386	-.26414
	3 ug/ml	-.199000*	.004517	,000	-.21386	-.18414
	8 ug/ml	.082000*	.004517	,000	.06714	.09686
	11 ug/ml	.160000*	.004517	,000	.14514	.17486
8 ug/ml	0 ug/ml	-.361000*	.004517	,000	-.37586	-.34614
	3 ug/ml	-.281000*	.004517	,000	-.29586	-.26614
	6 ug/ml	-.082000*	.004517	,000	-.09686	-.06714
	11 ug/ml	.078000*	.004517	,000	.06314	.09286
11 ug/ml	0 ug/ml	-.439000*	.004517	,000	-.45386	-.42414
	3 ug/ml	-.359000*	.004517	,000	-.37386	-.34414
	6 ug/ml	-.160000*	.004517	,000	-.17486	-.14514
	8 ug/ml	-.078000*	.004517	,000	-.09286	-.06314

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 8
(*Gamochaeta purpurea*, Método DPPH•)

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,247	4	,062	5570,075	,000
Dentro de grupos	,000	10	,000		
Total	,247	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	2.08 ug/ml	.1390000*	.0027162	,000	.127215	.150785
	4.17 ug/ml	.2060000*	.0027162	,000	.194215	.217785
	6.23 ug/ml	.3076667*	.0027162	,000	.295881	.319452
	8.33 ug/ml	.3640000*	.0027162	,000	.352215	.375785
2.08 ug/ml	0 ug/ml	-.1390000*	.0027162	,000	-.150785	-.127215
	4.17 ug/ml	.0670000*	.0027162	,000	.055215	.078785
	6.23 ug/ml	.1686667*	.0027162	,000	.156881	.180452
	8.33 ug/ml	.2250000*	.0027162	,000	.213215	.236785
4.17 ug/ml	0 ug/ml	-.2060000*	.0027162	,000	-.217785	-.194215
	2.08 ug/ml	-.0670000*	.0027162	,000	-.078785	-.055215
	6.23 ug/ml	.1016667*	.0027162	,000	.089881	.113452
	8.33 ug/ml	.1580000*	.0027162	,000	.146215	.169785
6.23 ug/ml	0 ug/ml	-.3076667*	.0027162	,000	-.319452	-.295881
	2.08 ug/ml	-.1686667*	.0027162	,000	-.180452	-.156881
	4.17 ug/ml	-.1016667*	.0027162	,000	-.113452	-.089881
	8.33 ug/ml	.0563333*	.0027162	,000	.044548	.068119
8.33 ug/ml	0 ug/ml	-.3640000*	.0027162	,000	-.375785	-.352215
	2.08 ug/ml	-.2250000*	.0027162	,000	-.236785	-.213215
	4.17 ug/ml	-.1580000*	.0027162	,000	-.169785	-.146215
	6.23 ug/ml	-.0563333*	.0027162	,000	-.068119	-.044548

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 9
(*Gamochaeta purpurea*, Método ABTS^{•+})

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,706	4	,177	3631,737	,000
Dentro de grupos	,000	10	,000		
Total	,706	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS				Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	1 ug/ml	.166667*	.005692	,000	.14793	.18540
	3 ug/ml	.223667*	.005692	,000	.20493	.24240
	8 ug/ml	.492333*	.005692	,000	.47360	.51107
	10 ug/ml	.591333*	.005692	,000	.57260	.61007
1 ug/ml	0 ug/ml	-.166667*	.005692	,000	-.18540	-.14793
	3 ug/ml	.057000*	.005692	,000	.03827	.07573
	8 ug/ml	.325667*	.005692	,000	.30693	.34440
	10 ug/ml	.424667*	.005692	,000	.40593	.44340
3 ug/ml	0 ug/ml	-.223667*	.005692	,000	-.24240	-.20493
	1 ug/ml	-.057000*	.005692	,000	-.07573	-.03827
	8 ug/ml	.268667*	.005692	,000	.24993	.28740
	10 ug/ml	.367667*	.005692	,000	.34893	.38640
8 ug/ml	0 ug/ml	-.492333*	.005692	,000	-.51107	-.47360
	1 ug/ml	-.325667*	.005692	,000	-.34440	-.30693
	3 ug/ml	-.268667*	.005692	,000	-.28740	-.24993
	10 ug/ml	.099000*	.005692	,000	.08027	.11773
10 ug/ml	0 ug/ml	-.591333*	.005692	,000	-.61007	-.57260
	1 ug/ml	-.424667*	.005692	,000	-.44340	-.40593
	3 ug/ml	-.367667*	.005692	,000	-.38640	-.34893
	8 ug/ml	-.099000*	.005692	,000	-.11773	-.08027

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 10
(Trolox ®, Método DPPH•)

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,273	4	,068	5327,096	,000
Dentro de grupos	,000	10	,000		
Total	,273	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

(I) GRUPOS	(J) GRUPOS	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	0.67 ug/ml	.1033333*	.0029212	,000	.090659	.116008
	1.33 ug/ml	.1716667*	.0029212	,000	.158992	.184341
	2.67 ug/ml	.3136667*	.0029212	,000	.300992	.326341
	3.33 ug/ml	.3680000*	.0029212	,000	.355325	.380675
0.67 ug/ml	0 ug/ml	-.1033333*	.0029212	,000	-.116008	-.090659
	1.33 ug/ml	.0683333*	.0029212	,000	.055659	.081008
	2.67 ug/ml	.2103333*	.0029212	,000	.197659	.223008
	3.33 ug/ml	.2646667*	.0029212	,000	.251992	.277341
1.33 ug/ml	0 ug/ml	-.1716667*	.0029212	,000	-.184341	-.158992
	0.67 ug/ml	-.0683333*	.0029212	,000	-.081008	-.055659
	2.67 ug/ml	.1420000*	.0029212	,000	.129325	.154675
	3.33 ug/ml	.1963333*	.0029212	,000	.183659	.209008
2.67 ug/ml	0 ug/ml	-.3136667*	.0029212	,000	-.326341	-.300992
	0.67 ug/ml	-.2103333*	.0029212	,000	-.223008	-.197659
	1.33 ug/ml	-.1420000*	.0029212	,000	-.154675	-.129325
	3.33 ug/ml	.0543333*	.0029212	,000	.041659	.067008
3.33 ug/ml	0 ug/ml	-.3680000*	.0029212	,000	-.380675	-.355325
	0.67 ug/ml	-.2646667*	.0029212	,000	-.277341	-.251992
	1.33 ug/ml	-.1963333*	.0029212	,000	-.209008	-.183659
	2.67 ug/ml	-.0543333*	.0029212	,000	-.067008	-.041659

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

ANEXO 11
(Trolox ®, Método ABTS^{•+})

ANOVA

Absorbancias

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	,254	4	,063	293,999	,000
Dentro de grupos	,002	10	,000		
Total	,256	14			

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Absorbancias

HSD Tukey

		Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
(I) GRUPOS	(J) GRUPOS				Límite inferior	Límite superior
0 ug/ml	0.8 ug/ml	.1100333*	.0119903	,000	.070572	.149495
	1.2 ug/ml	.1650333*	.0119903	,000	.125572	.204495
	1.6 ug/ml	.2066333*	.0119903	,000	.167172	.246095
	3 ug/ml	.3954333*	.0119903	,000	.355972	.434895
0.8 ug/ml	0 ug/ml	-.1100333*	.0119903	,000	-.149495	-.070572
	1.2 ug/ml	.0550000*	.0119903	,007	.015539	.094461
	1.6 ug/ml	.0966000*	.0119903	,000	.057139	.136061
	3 ug/ml	.2854000*	.0119903	,000	.245939	.324861
1.2 ug/ml	0 ug/ml	-.1650333*	.0119903	,000	-.204495	-.125572
	0.8 ug/ml	-.0550000*	.0119903	,007	-.094461	-.015539
	1.6 ug/ml	.0416000*	.0119903	,038	.002139	.081061
	3 ug/ml	.2304000*	.0119903	,000	.190939	.269861
1.6 ug/ml	0 ug/ml	-.2066333*	.0119903	,000	-.246095	-.167172
	0.8 ug/ml	-.0966000*	.0119903	,000	-.136061	-.057139
	1.2 ug/ml	-.0416000*	.0119903	,038	-.081061	-.002139
	3 ug/ml	.1888000*	.0119903	,000	.149339	.228261
3 ug/ml	0 ug/ml	-.3954333*	.0119903	,000	-.434895	-.355972
	0.8 ug/ml	-.2854000*	.0119903	,000	-.324861	-.245939
	1.2 ug/ml	-.2304000*	.0119903	,000	-.269861	-.190939
	1.6 ug/ml	-.1888000*	.0119903	,000	-.228261	-.149339

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.